L. Ș. NUDELI
A. V. KOROTKEVICI

MICROBIOLOGIA ȘI BIOCHIMIA VINULUI

D-lui Fulga
cu adînc respect
de la autor
[signature]
27.12.93

L. Ş. NUDELI
A. V. KOROTKEVICI

MICROBIOLOGIA ŞI BIOCHIMIA VINULUI

Admisă în calitate de material didactic de către Direcţia generală pentru pregătirea, reciclarea cadrelor şi gospodăriile de instruire a Ministerului agriculturii şi alimentaţiei din Republica Moldova pentru elevii şcolii medii de specialitate cu profil agricol la specialitatea «Tehnologia vinificării»

CHIŞINĂU
UNIVERSITAS
1992

Tradusă de profesorul sovhozului-şcoală de viticultură
şi vinificaţie din Chişinău S. V. Şeremet

Redactor *L. Popa*

Nudeli L. Ş., Korotkevici A. V.

N 91 Microbiologia şi biochimia vinului: Man. pentru elevii şc. medii de specialitate cu profil agr. la specialitatea «Tehnologia vinificării» / Trad. din l. rusă de S. V. Şeremet. — Ch.: Universitas, 1992.— 212 pag., il.; tab.

ISBN

În manual sînt descrise pe larg morfologia, clasificarea şi dezvoltarea microorganismelor, procesele biochimice provocate de către microorganisme. Totodată sînt elucidate chestiunile referitoare la influenţa microflorei fructelor şi boabelor asupra calităţii produselor vinicole, profilaxia şi microbiologia unor vinuri de tip special cît şi transformările biochimice din must, mustuială şi vinuri la diferite etape de preparare.

Manualul e predestinat studenţilor şcolilor tehnice speciale la specialitatea 2704 «Tehnologia vinificării».

N 4001080500—070 / M 751(10)—92

CBB 36.87я72

ISBN 5—362—00825—0

PREFAȚA LA EDIȚIA ROMÂNĂ

Varianta tradusă a manualului L. Ș. Nudeli, A. V. Korotkevici «Mikrobiologhia i biohimia vina», M., 1980 este completată în corespundere cu cerințele programului «Microbiologia și biochimia vinului» pentru așezămintele de învățămînt mediu la specialitatea 2704 «Tehnologia vinificării».

Manualul în original constă din două părți: «Microbiologia vinului» și «Biochimia vinului», în traducere — din trei părți: «Microbiologia generală», «Microbiologia vinului», «Biochimia vinului».

Intrebările referitoare la microbiologia generală (forma, dimensiunile, structura celulei și înmulțirea levurilor, bacteriilor, ciupercilor) din partea întîi a manualului în original sînt introduse în partea întîi a manualului în traducere, care e alcătuită conform programului sus-numit și completată pe baza manualelor N. M. Verbina, I. V. Keptereva «Microbiologhia pișcevîh proizvodstv». M., 1988 (pag. 33—102); I. F. Avramenko «Microbiologhia». M., 1979 (pag. 11) și E. N. Mișustin, V. T. Emțev «Microbiologhia». M., 1979 (pag. 18).

In partea a treia a manualului «Biochimia vinului» au fost făcute unele schimbări neînsemnate (e arătat chimismul fermentării mololactice (capitolul 4,6) prin formule și reacții chimice), după manualele Rodopulo A. K. «Biohimia vinodelia», M., 1979 și Rodopulo A. K. «Biohimia șampanscogo proizvodstva». M., 1975.

§ 1 (capitolul 5) «Enzimele vinului» e completat, fiind mai detaliat descrisă importanța enzimelor pentru vin.

Materialul referitor la producerea șampaniei din § 2 (capitolul 1) «Păstrarea vinurilor tinere pe sedimente de grojdii» e transferat în § 4 (capitolul 6), § 5 (capitolul 5) «Transformările componenților de bază în perioada de maturare, a vinului» e completat cu o schemă a proceselor ce au loc în timpul maturării vinului.

Conform cerințelor programului, capitolul 12 (în varianta tradusă corespunde capitolului 6) e modificat și completat. In el sînt caracterizate mai pe larg vinurile de șampanie (de bază) (§ 1), tehnologia vinurilor spumante (șampaniei) (§ 2) și biochimia vinurilor șampanizate (§§ 3, 4, 5,).

E sistematizat și completat și materialul privitor la prepararea vinurilor de tipul heres.

In manual sînt introduse unele desene și tabele necesare pentru ilustrarea mai amplă a materialului.

INTRODUCERE

Microbiologia (din grecește mikros — mic, bios — viață, logos — știință) studiază viața organismelor mici, invizibile cu ochiul liber, ce aparțin lumii vegetale (drojdiile, mucegaiurile, bacteriile). Unele microorganisme cu dimensiuni foarte mici (1—10 mkm[1]) nu pot fi văzute decît la microscop, fiind mărite de 600—800 de ori. În unele condiții îngrămădirile mari de microorganisme (microbi) pot fi văzute și cu ochiul liber. Așa, bunăoară, la o concentrație mare de microorganisme în lichid (de exemplu în mustul de struguri, unde concentrația drojdiilor atinge 150 mln de celule la un mililitru), acesta din urmă devine tulbure. De aceea tulburarea vinului e un simptom al dezvoltării microbilor în el. Mulți microbi formează o peliculă densă la suprafața lichidului (mustului, vinului).

Microbiologia studiază proveniența, dezvoltarea, structura și activitatea vitală a microorganismelor.

Ea constă din două părți: generală și specială. Cea generală studiază morfologia (structura), clasificarea și fiziologia microorganismelor, cea specială — rolul și întrebuințarea microorganismelor în diferite sfere de activitate a omului.

Microbiologia e strîns legată de astfel de ramuri ale științei ca botanica, zoologia, chimia, medicina, agronomia, tehnologia diferitelor ramuri ale industriei, îndeosebi a industriei alimentare. Principalele ei sarcini constau în elaborarea noilor mijloace de stimulare a dezvoltării microorganismelor folositoare și de luptă împotriva celor dăunătoare, cît și a noilor măsuri de profilaxie împotriva infectării cu microorganisme patogene.

Microorganismele sînt răspîndite larg în natură. Ele se întîlnesc pretutindeni: în aer, apă, sol, pe suprafața obiectelor ce ne înconjoară, pe organismul nostru, în gură, stomac, intestine etc.

Despre gradul de răspîndire a lor ne vorbesc următoarele date: un m^3 de aer conține 100 de bacterii, de apă — 1000 și de lapte — 1000—100 000 de bacterii. Un g de sol sărac conține 300—500 mln de bacterii, cel mediu — aproximativ 1 mlrd și cel bogat — 2 mlrd de bacterii.

Microorganismele joacă un rol important în circuitul substanțelor în natură; în proveniența multor resurse minerale (turbă, căr-

[1] 1 mkm (micrometru) = 0,001 mm.



L. Pasteur
(1822—1895)



I. I. Mecinicov
(1845—1916)

bune de pămînt, petrol); în crearea unora şi distrugerea altor roci de munte; în transformarea substanţelor organice şi minerale în sol; în fermentarea produselor din industria alimentară şi sinteza diferitelor substanţe (fermenţi, aminoacizi); în lupta împotriva bolilor infecţioase (la producerea antibioticelor şi a vaccinelor).

Capacitatea microorganismelor de a schimba componenţa chimică a mediului înconjurător are o importanţă practică colosală şi determină direcţia proceselor tehnologice în vinificare. Vinificatorul trebuie să cunoască proprietăţile şi capacităţile tuturor microorganismelor mustului şi vinului pentru a putea dirija activitatea microbilor prin intermediul diferitelor mijloace tehnologice (tratamentul cu căldură, refrigerare, filtrare, iradiere, introducerea conservanţilor etc.) cu scopul de a căpăta vinuri de calitate superioară. Totodată microorganismele pot aduce şi multe daune. De aceea trebuie să putem dirija activitatea lor.

Fondatorul microbiologiei ca ştiinţă a fost învăţătorul olandez A. Levenguk, care în anul 1673 a construit primul microscop primitiv, cu ajutorul căruia a descoperit lumea fiinţelor mici necunoscute pînă atunci. Descoperirile sale le-a descris în cartea «Tainele naturii descoperite de Anton Levenguk».

Timp de 150 de ani microbiologia ca ştiinţă nu s-a dezvoltat, fiind apoi reluată studierea ei de către învăţătorul francez Louis Pasteur (1822—1895). El a arătat rolul microorganismelor în natură şi în viaţa omului. Lui îi aparţine începutul perioadei fiziologice în dezvoltarea microbiologiei.

Louis Pasteur a descifrat procesul fermentării alcoolice (a. 1857), bolile berii şi ale vinului (a. 1865), vaccinul împotriva turbării (a. 1885) şi multe altele.

La dezvoltarea microbiologiei generale şi medicinale a contribuit învăţatul german Robert Koch cu descoperirile sale: mediile



D. I. Ivanovski
(1864—1920)



S. N. Vinogradski
(1856—1953)

nutritive solide, colorarea bacteriilor, provocatorii tuberculozei (bacilii lui Koch) şi ai holerei etc.

Un mare rol în dezvoltarea microbiologiei l-au jucat învăţăţii ruşi I. I. Mecinikov (teoria imunităţii şi a ştiinţei despre antagonism în lumea microbilor), D. I. Ivanovski (viruşii filtrabili, fondatorul virusologiei), S. N. Vinogradski (fondatorul microbiologiei solului), V. L. Omelianski (primul manual «Bazele microbiologiei», a. 1909).

Microbiologiei vinificării sînt consacrate lucrările lui M. A. Hovrenko, A. M. Florov-Bagreev, M. A. Gherasimov, N. F. Saenko, E. I. Kvasnikova, G. F. Condo.

PARTEA I. MICROBIOLOGIA GENERALĂ

CAPITOLUL 1
MORFOLOGIA ŞI CLASIFICAREA MICROORGANISMELOR

§ 1. Morfologia microorganismelor

M o r f o l o g i a microorganismelor studiază forma şi particularităţile structurii celulelor, capacitatea lor de a se mişca, de a forma spori, metodele în înmulţire etc. Toate speciile de microbi poartă denumirea de «protiste» sau «protozoare». Microorganismele lumii vegetale se numesc protofite (cele mai simple plante), iar cele ale lumii animale — protozoare (cele mai simple animale).

Majoritatea microorganismelor sînt fiinţe unicelulare, văzute numai la microscop (bacteriile, mixobacteriile, actinomicetele, levurile (drojdiile), spirochetele şi unele alge). Din cele multicelulare fac parte bacteriile filamentoase şi majoritatea ciupercilor de mucegai, care uneori ating astfel de dimensiuni, încît pot fi văzute cu ochiul liber.

În afară de microorganismele unicelulare şi multicelulare în natură se mai întîlnesc vietăţi cu structură acelulară — ultramicrobii. Printre ei deosebit de importanţi sînt viruşii şi fagii.

§ 2. Procarioţii şi eucarioţii

Celula microbiană e separată de mediul ambiant prin intermediul peretelui celular, iar uneori numai prin membrana citoplasmatică. Structura celulei poate fi de două tipuri ce se deosebesc între ele fundamental: eucariotic şi procariotic. Microorganismele cu nucleu adevărat se numesc e u c a r i o ţ i (eu — din grec. adevărat, real, cario — nucleu). Microorganismele cu aparat nucleic primitiv se numesc p r o c a r i o ţ i.

Din grupul eucarioţilor fac parte ciupercile, algele şi protozoarele. Structura celulei lor este identică cu a celulei vegetale şi animale. Bacteriile şi algele euglenofite fac parte din grupul procarioţilor.

§ 3. Levurile

Forma, dimensiunile şi structura levurilor. Levurile sînt organisme monocelulare imobile. Ele au diferite forme — eliptică, ovală, sferică şi bacilară (în formă de bastonaş) (fig. 1). Celulele pot

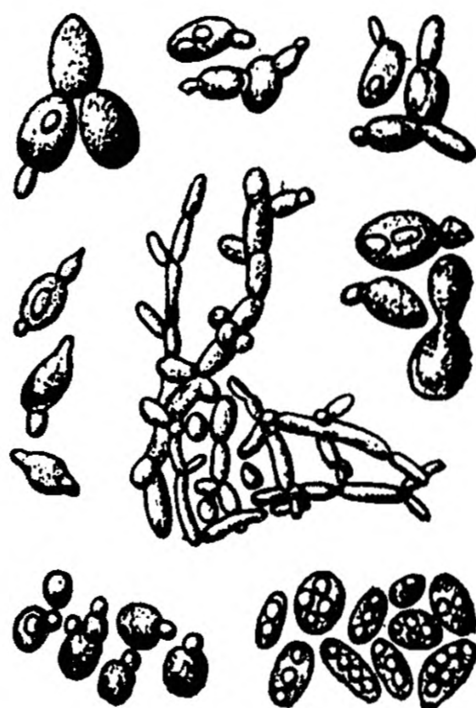


Fig. 1. Forma levurilor

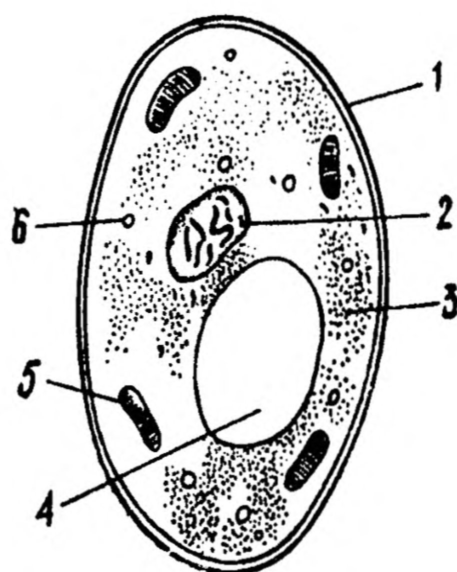


Fig. 2. Schema structurii celulei levuriale:

1 — membrana celulară; 2 — nucleul; 3 — citoplasma; 4 — vacuola; 5 — mitocondriile; 6 — ribozomii.

atinge lungimea de la 5 pînă la 12 mkm şi lăţimea de la 3 pînă la 8 mkm.

Forma şi dimensiunile celulelor levurilor sînt nestabile şi depind de gen şi specie, de condiţiile de cultivare, de componenţa mediului nutritiv şi de alţi factori. Celulele tinere sînt comparativ stabile faţă de aceşti factori, de aceea pentru caracterizarea drojdiilor se folosesc culturi tinere.

Celula levurei (fig. 2) constă din membrana celulară, citoplasmă sau protoplasmă, din componenţa căreia fac parte organele şi incluziunile (substanţe de rezervă) sub formă de picături de grăsime, granule de glicogen şi valutină.

M e m b r a n a c e l u l a r ă e subţire, densă şi elastică. Ea păstrează forma celulei, reglează procesele de schimb, menţine presiunea osmotică intracelulară. Prin intermediul ei în celulă nimeresc substanţele necesare pentru nutriţie şi creştere şi se elimină în afară produsele de schimb. Grosimea membranei depinde de vîrsta şi starea celulei. Celula tînără are membrana foarte subţire (de aproape 0,5 *mkm*). Odată cu maturizarea ei membrana se îngroaşă pînă la 1 *mkm*. Membrana celulară e formată din două straturi ce se deosebesc prin cantitatea **glucanilor şi mananilor.** Stratul interior—membrana citoplasmatică, ce înconjoară citoplasma — e permeabil pentru apă şi substanţele cu masa moleculară nu prea mare dizolvate în ea, cel exterior — pentru mai multe substanţe.

Membrana unor drojdii la o anumită perioadă de dezvoltare devine lipicioasă, de aceea unele celule se lipesc, formînd îngrămădiri mari în formă de ghem. Acest proces poartă denumirea de a g l u-

tinare, iar levurile ce aglutinează se numesc levuri-fulgi. În vinificare acest proces e deosebit de important, deoarece înlesneşte procesul de limpezire a vinului după terminarea fermentării.

Rasele incapabile de a aglutina sînt numite pulverulente. În vinificarea primară ele nu se întrebuinţează şi sînt folosite la producerea şampaniei de rezervor.

Membrana citoplasmatică serveşte drept barieră osmotică a celulei. Ea constă din acizi nucleici, proteine şi polizaharide.

Citoplasma celulei este omogenă. În ea decurg procesele de schimb ale substanţelor de importanţă vitală colosală. Ea posedă capacitatea de selecţie a perceperii diferitelor substanţe. Astfel, spre exemplu, zaharoza din soluţie nu e percepută de ea, pe cînd glucoza, fructoza, acizii organici şi sărurile trec liber. În citoplasmă decurg transformări complicate ale substanţelor, ce pătrund în ea: o parte se consumă pentru însăşi formarea citoplasmei şi a membranei celulei, altă parte serveşte ca izvor de energie necesară pentru procesele vitale.

Citoplasma are capacitatea de mişcare, mai ales în celulele tinere. Ea mai are şi capacitatea de a se contracta şi de a se alungi, în urma cărui fapt forma vacuolei centrale (cavitate umplută cu suc celular) se schimbă.

Citoplasma reprezintă un sistem coloidal complicat, mediul de dispersie al căruia e apa, ce conţine hidraţi de carbon, săruri minerale, aminoacizi şi fermenţi dizolvaţi în ea. Viscozitatea citoplasmei depăşeşte viscozitatea apei de 800 de ori. Pe măsura îmbătrînirii celulei viscozitatea citoplasmei creşte, apare o granulaţie şi o vacuolizaţie măruntă cît şi granule de grăsime.

Nucleul — organ al celulei — se află în citoplasmă şi este purtătorul capacităţilor ereditare ale organismului. Are forma de băşică eliptică sau ovală cu diametrul aproximativ de 2 mkm, înconjurată de o peliculă foarte subţire. Conţine un lichid străveziu — nucleoplasma şi o cariozomă mai densă (nucleolul).

Nucleul este un conglomerat de cromozomi lipiţi, neomogeni, formaţi din structuri granuloase în formă de bastonaşe. Numărul lor poate fi de la 4 pînă la 10—12 — în dependenţă de genul şi specia levurilor. În nucleu se află acid dezoxiribonucleic (ADN) în formă de incluziuni izolate. Cu ajutorul lui se transmit caracterele fiziologice. În procesul înmulţirii nucleul se devide în 2 părţi, iar la formarea sporilor — într-un număr de părţi egal cu numărul sporilor formaţi.

Mitocondriile (condriozomi) (fig. 3) de asemenea fac parte din organele celulei. Ele sînt nişte structuri mici în formă de granule, bastonaşe sau filamente. Membrana lor constă din două straturi. De la membrana interioară în adînc pornesc numeroase ieşituri numite creşte. Lungimea mitocondriilor e de 0,4—1,0 mkm, lăţimea — 0,2—0,5 mkm. Ele conţin 30% de lipide şi 50% de proteine. Mitocondriile servesc drept aparat de respiraţie, în care sînt concentraţi fermenţii de oxidare.

Ribozomii sînt organele, în care are loc sinteza proteinelor din

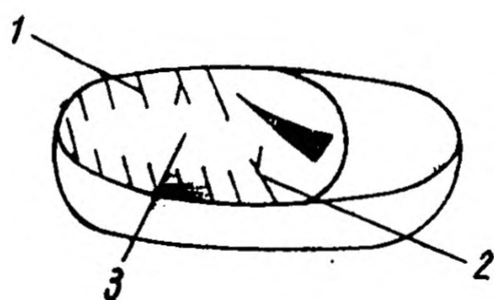


Fig. 3. Schema structurii mitocondriilor: 1— diafragmă simplă; 2 — diafragmă ramificată; cavitate (cristă).

aminoacizii mitocondriilor. Sinteza proteinelor se petrece cu ajutorul acidului ribonucleic (ARN) cuplat cu proteinele. Consecutivitatea alternării aminoacizilor în timpul sintezei este determinată de consecutivitatea nucleotizilor în ARN din componența ribozomilor.

Vacuola — organ obligatoriu al celulei separat de citoplasmă printr-o membrană lipoproteidală. În componența vacuolei intră proteine, grăsimi, hidrați de carbon, substanțe minerale și organice sub formă coloidală și sisteme de fermenți. Aici se acumulează diferite elemente și compușii lor în formă de săruri cu concentrația mult mai sporită decît conținutul lor în mediul ambiant. În vacuole pot avea loc transformări fermentative. Celulele levurilor rotunde conțin o singură vacuolă, iar cele alungite două. Forma lor e instabilă.

Substanțele de rezervă ale celulelor levurilor sînt alcătuite din metacromatină (volutină), glicogen, incluziuni de grăsime și sînt situate în vacuole. Conținutul metacromatinei variază în dependență de compoziția mediului nutritiv și de etapa de dezvoltare a levurilor. O cantitate sporită de metacromatină conține celula mai ales înainte de înmugurire. Metacromatina e un complex al lipoproteidelor, ARN și polifosfaților.

Glicogenul e polizaharidă asemănătoare cu amidonul și se mai numește amidon animalier. El constituie 30—40% din masa substanțelor uscate a celulei de levuri. Rezerva de glicogen în levur apare în perioada fermentării abundente, iar spre sfîrșitul fermentării dispare, fiind consumat de către celule în perioada de înfometare.

Incluziunile de grăsimi din vacuole în formă de picături mici își măresc volumul paralel cu creșterea celulei.

Înmulțirea levurilor. Levurile se pot înmulți pe cale vegetativă (prin înmugurire sau divizare) și cu ajutorul sporilor.

În timpul înmuguririi pe celula maternă apare o tuberozitate — mugure, care treptat se mărește pînă atinge anumite dimensiuni, apoi se separă de la celula maternă. În condiții favorabile procesul de înmugurire durează aproape 2 ore. Unele levuri nu se separă de celulele-fiice și rămîn unite, formînd un miceliu fals (levuri paleacee).

Majoritatea levurilor în condiții nefavorabile, mai ales de trecere de la o hrană bună la una mai proastă formează spori. Însă exis-

tă levuri asporogene, care nu formează spori (*Candida, Torulopsis*).

De regulă, sporii apar pe cale agamă (asexuată) şi posedă cromozomi haploizi simpli.

În celulă apar de la 2 pînă la 8 ascospori, care după maturizare continuă înmulţirea prin înmugurire, formînd o generaţie haploidă slăbită. În urma contopirii a doi ascospori haploizi se formează zigotul diploid, care în continuare dă naştere unei generaţii normale.

Formarea sporilor sexuaţi se observă la levurile *Zigosaccharomices*, ce e precedată de contopirea a două celule (copulare).

Clasificarea levurilor. Levurile fac parte din clasa ciupercilor ascomicete (*Ascomycetes*) şi subclasa protozoarelor ascomicete (*Protoascales*). La baza clasificării se află metoda de înmulţire şi unele caractere fiziologice.

Principalul caracter sistematic este capacitatea de a forma spori, conform căruia levurile se împart în două grupuri: levurile sporogene, capabile de a forma spori, şi levurile asporogene, care nu formează spori şi deci nu au capacitatea de înmulţire sexuată.

După părerea unor cercetători levurile din grupul al doilea se referă la clasa ciupercilor imperfecte (*Fungi imperfecti*). Capacitatea lor de a se înmulţi pe cale sexuată are însemnătate secundară, de aceea ele pot fi atribuite şi ciupercilor ascomicete.

Clasificarea levurilor sporogene a fost propusă în anul 1954 de către V. Cudreavţev, punînd la baza clasei metoda de înmulţire vegetală. El a şi propus ca toate levurile să fie întrunite într-un singur ordin al ciupercilor monocelulare (*Unicellomycetales*).

Levurile sporogene le împarte în trei familii, după caracterul înmulţirii vegetale.

1. Familia *Saccharomycetaceae* — se înmulţesc prin înmugurire. Din această familie fac parte 17 genuri — *Saccharomyces, Pichia, Hansenula* etc. Însemnătate practică deosebită o are genul *Saccharomyces*. Genurile se deosebesc după forma sporilor, modul de apariţie şi de creştere a lor.

2. Familia *Schizosaccharomycetaceae* — se înmulţesc prin divizare. Din această familie fac parte două genuri: *Schizosaccharomyces* şi *Octosporomyces*.

3. Familia *Saccharomycodaceae* — înmulţirea începe prin înmugurire şi se termină prin divizare. Genurile principale ale acestei familii sînt *Saccharomycodes* şi *Hanseniaspora*.

Levurile asporogene se clasifică după sistemul lui G. Lodder şi Kregher van Rii, propus în anul 1952. La baza clasificării sînt puse capacitatea microorganismelor de a forma miceliu fals şi de a fermenta. Genurile principale ale acestui grup sînt *Candida* şi *Torulopsis*.

§ 4. Bacteriile

Forma, dimensiunile şi structura celulei bacteriale. Bacteriile sînt organisme vegetale microscopice. Majoritatea lor sînt organisme monocelulare, ce nu conţin clorofilă şi se înmulţesc prin divizare.

Bacteriile pot avea formă sferică, de bastonaş (bacilară) şi ondulată. Cele sferice se numesc coci. Ei pot fi răzleţi (cocii, micrococii), uniţi în pereche (diplococii), în grupuri a cîte patru (tetracocii), uniţi în lanţ (streptococii), în pacheţele (sarcine) şi în îngrămădiri de formă neregulată (stafilococii). Diametrul bacteriilor sferice e de la 0,5 pînă la 1 mkm.

Bacteriile în formă de bastonaşe sînt de două feluri: bacterii şi bacili. Caracterul de bază prin care se deosebesc aceste forme este capacitatea de a forma spori. Bacilii formează spori, pe cînd bacteriile nu posedă o astfel de capacitate. Bacteriile în formă de bastonaşe se pot uni în perechi sau în lanţ. Grosimea lor e de 0,2—2,0 mkm, lungimea — de 1—7 mkm.

Bacteriile de formă ondulată pot fi încovoiate. După numărul de cîrlionţi ele se împart în vibrioni, care au forma virgulei (provocatorii holerei), spirele cu doi-trei cîrlionţi şi spirochete cu un număr mare de cîrlionţi. Dimensiunile acestor bacterii sînt ca şi a celor în formă de bastonaşe.

Celula bacterială (fig. 4) e formată din membrana celulară şi conţinutul celulei — citoplasma (protoplasma).

Membrana celulară determină forma celulei, protejînd-o totodată de acţiunile externe. Ea e semipermeabilă, adică prin ea pot pătrunde unele substanţe (cu greutatea moleculară mică), iar altele (cu greutatea moleculară mare) — nu. Ea joacă un rol hotărîtor în schimbul de substanţe între celulă şi mediul ambiant. Conform ultimelor descoperiri, în ea se petrec numeroase reacţii chimice, inclusiv şi sinteza polizahariadelor, posibil şi a proteinelor.

Stratul exterior al citoplasmei, prins de membrana celulară, se numeşte *membrană citoplasmatică*. Ea constă din trei straturi, conţine lipide şi proteine, numeroşi fermenţi, ce iau parte la schimbul de substanţe.

Membrana citoplasmatică îndeplineşte funcţia de barieră osmotică. Ea dirijează intrarea în celulă şi ieşirea din ea a substanţelor. Se presupune că podeţurile de proteine în stratul din lipide servesc drept pori pentru circulaţia curentului de substanţe. Această circulaţie este dirijată de fermenţii localizaţi în interiorul membranei sau la suprafaţa ei. In membrana citoplasmatică are loc, pesemne, sinteza substanţelor membranei celulare şi a fermenţilor.

Citoplasma e o substanţă vie semilichidă, ce umple toată cavitatea celulei. Componentul ei principal sînt proteinele. Mai conţine şi substanţe nutritive de rezervă sub formă de grăsimi şi asemănătoare grăsimilor.

În citoplasmă se află *ribozomii* şi *mezozomii*. În ribozomi are loc sinteza proteinelor. O celulă poate conţine 5—50 mii de ribozomi. În ei e concentrat 80—85% de ARN. În mezozomi sînt

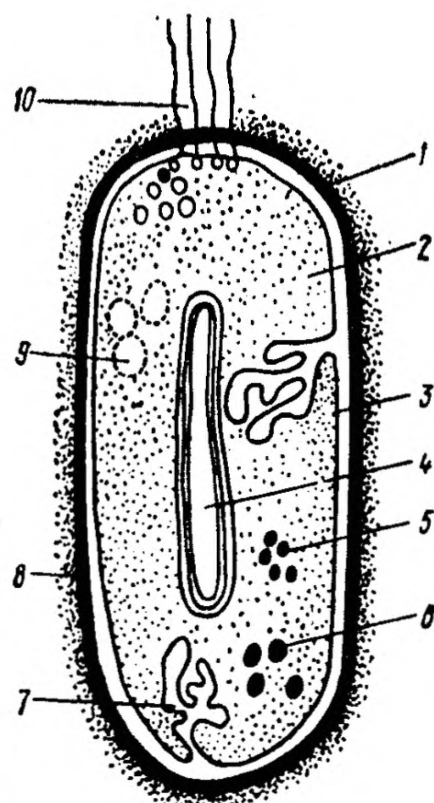


Fig. 4 Schema structurii celulei bacteriale:

1 — membrana celulară; 2 — citoplasma; 3 — membrana citoplasmatică; 4 — substanța nucleară; 5 — ribozomii; 6 — picături de grăsime; 7 — mezozoma; 8 — capsula; 9 — granule de polizaharide; 10 — flagele.

concentrați fermenți de oxidoreducere. Aici au loc procesele de oxidoreducere, datorită cărora celula capătă energia necesară.

Bacteriile nu au un nucleu bine determinat. Substanța nucleală constă din ADN și ARN, localizați în corpusculele de cromatină.

Membrana celulară a unor bacterii elimină mucozități, datorită cărui fapt celula se acoperă cu o capsulă lipicioasă. În urma mucilaginării puternice celulele se lipesc într-o masă compactă cleioasă de zoogleu.

Mobilitatea bacteriilor. Datorită dimensiunilor mici bacteriile sînt supuse mișcării brouniene. Mișcarea propriu-zisă a bacteriilor se înfăptuiește datorită flagelilor formați din cîteva fibre răsucite în formă de spirală și fixate cu ajutorul unor discuri speciale sub membrana citoplasmatică. Flagelii sînt foarte subțiri și nu pot fi văzuți la microscopul optic fără de o colorație specifică. Ei au o lungime ce depășește de cîteva ori lungimea celulei.

După numărul și modul de amplasare a flagelilor bacteriile se împart în uniflagelate (cu un singur flagel), lofoflagelate (cu un mănunchi de flageli) și periflagelate (flagelii acoperă toată suprafața celulei).

Viteza de mișcare a bacteriilor depinde de vîrstă și condiții. Celulele tinere sînt mult mai mobile decît cele bătrîne. În condiții favorabile într-o secundă celula parcurge o distanță egală cu lungimea ei.

Înmulțirea și formarea sporilor la bacterii. Bacteriile se înmulțesc prin divizarea celulei în două. Bacteriile sferice se împart după diametru, cele în formă de bastonașe și ondulate — de-a curmezișul, iar spirochetele — de-a lungul. Viteza divizării depinde de unele condi-

ţii: componenţa mediului nutritiv, temperatură etc. În condiţii favorabile durata înmulţirii bacteriilor e de 20—30 de minute.

În condiţii nefavorabile bacilii formează spori. Astfel din protoplasma celulei se elimină apa (de la 85 pînă la 40%), concentrîndu-se în centru sau într-un capăt al celulei, şi se acoperă cu o membrană din două straturi, îmbibată cu substanţe răşinoase şi grase, care o face rezistentă la acţiunea temperaturilor, substanţelor toxice etc. În stare de spori bacteria nu are nevoie de apă şi hrană. Funcţiile ei vitale sînt reduse la minimum. În această stare bacteriile mor numai în urma acţiunii temperaturii de 110°C timp de 20 de minute, iar în stare uscată — la 150—170°C timp de 1—2 ore. Sporii îşi păstrează activitatea vitală sute de ani. Nimerind în condiţii favorabile, ei germinează, formînd celule noi.

Clasificarea bacteriilor. O clasificare unică a bacteriilor nu există. În ţara noastră e recunoscută clasificarea savantului. I. A. Krasilinikov. Bacteriile el le consideră organisme dintre cele mai simple, ce nu conţin clorofilă, şi le împarte în patru clase:

clasa I — *Actinomycetes* (actinomicete)
clasa a II-a — *Eubacteriae* (bacterii veritabile)
clasa a III-ea — *Myxobacteriae* (mixobacterii)
clasa a IV-a — *Spirochaetae* (spirochete).

Actinomycetes, sau ciupercile radiante, sînt un grup tranzitoriu între bacterii şi ciuperci. Ele au miceliul unicelular subţire, rămuros, lungimea căruia atinge cîţiva centimetri. Unele actinomicete se înmulţesc prin intermediul sporilor. Trăiesc în special în sol. Din această clasă fac parte mulţi microbi antagonişti — bacilul tuberculozei şi *Streptomyces,* care vieţuieşte în sol, producînd antibioticul steptomicina, ce nimiceşte bacilul de tuberculoză.

Eubacteriae — cea mai numeroasă clasă a bacteriilor. Din ea fac parte bacteriile coci în formă de bastonaşe, şi ondulate (în afară de spirochete). Printre ele sînt bacterii mobile şi imobile, care formează şi care nu formează spori, saprofiţi şi paraziţi (provocatori de boli infecţioase), excitanţi ai mucegaiului şi fermentării, spre exemplu ai fermentării malicolactice.

Mixobacteriae — bacterii mucilaginoase. Se deosebesc de bacteriile veritabile prin prezenţa nulceului bine format şi mişcarea reactivă. Se înmulţesc prin reşnuruire. Formează corpuri fructifere, ce reprezintă îngrămădiri de celule. Din această clasă fac parte excitanţii bolii vinului (băloşirea) *Bacillus viscosus vini.*

Spirochaetae — bacterii cu cîrlionţi numeroşi, asemănătoare cu tirbuşonul. Se mişcă şerpuitor. Printre ele se întîlnesc saprofiţi şi paraziţi, excitanţi ai bolilor.

§ 5. Ciupercile de mucegai

Structura ciupercilor. Ciupercile fac parte din plantele inferioare care formează spori. Sînt inferioare, deoarece le lipsesc oganele (rădăcinile, ramurile, frunzele), iar cu ajutorul sporilor se înmulţesc. Ciupercile nu conţin clorofilă, de aceea se alimentează cu substanţe

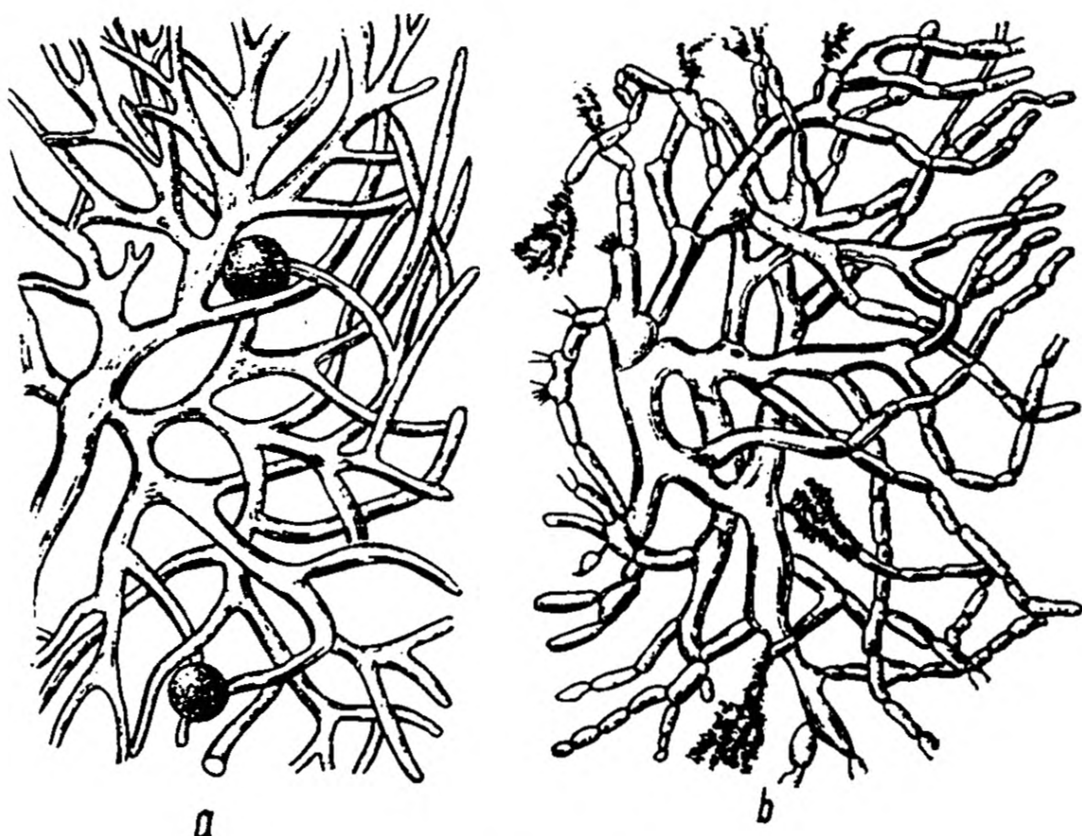


Fig. 5. Nifele ciupercilor:
a—monocelulare; b—policelulare.

organice gata (heterotrofe). Unele duc un mod de viaţă parazitar, însă majoritatea sînt saprofite.

Corpul ciupercii constă din fire lungi, subţiri, numite hife. În urma împletirii hifelor se formează miceliul. Hifele pot fi monocelulare şi policelulare, ramificate sau neramificate (fig. 5). Grosimea lor e de 1—15 mkm. Hifa creşte cu ajutorul vîrfului. Unele ciuperci nu au hife şi corpul lor constă dintr-o singură celulă (levurile).

Miceliul se poate dezvolta la suprafaţa substratului (exogen) sau în adîncul lui (endogen). Miceliul endogen e mai frecvent, deoarece dezvoltarea ciupercii în adîncul substratului duce la o asigurare a ei mai suficientă cu substanţe nutritive şi o apără de condiţiile nefavorabile. În acest caz la suprafaţa substratului ies hifele, care servesc ca mijloc de înmulţire. Uneori hifele se contopesc, formînd corpuri fructifere (ciuperci cu pălărie).

Structura celulelor ciupercilor e la fel ca şi a multor altor plante. Membrana celulară constă din hidraţi de carbon, structura cărora e asemănătoare cu structura celulozei, şi din substanţe azotoase, asemănătoare cu chitina. În calitate de substanţe nutritive de rezervă ciupercile îşi depun glicogen, valutină, picături de grăsime. Celulele pot fi mono- şi polinucleare. Polinuclearitatea ciupercilor este un fenomen obişnuit.

Înmulţirea ciupercilor. Ciupercile se înmulţesc pe cale vegetativă

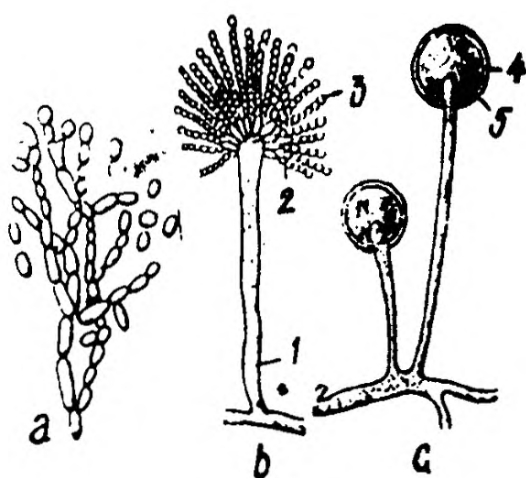


Fig. 6. Organele înmulţirii asexuate ale ciupercilor:

a — oidii; b — conidii; c — sporangii; 1 — conidioforul; 2 — sterigmele; 3 — conidiosporii; 4 — sporangii; 5 — sporangiospori.

şi prin spori. Inmulţirea vegetativă are loc cu ajutorul bucăţelelor de miceliu. Uneori hifele se descompun în celule aparte (oidii), care servesc pentru înmulţire.

Sporii pot fi de două feluri: sexuaţi şi asexuaţi. Formarea sporilor asexuaţi nu e precedată de contopirea a două celule. Sporii asexuaţi pot fi interni (endogeni) şi externi (exogeni) (fig. 6).

Sporii endogeni sînt sporagiosporii. Ei se află în sporangii situaţi pe nişte picioruşe lungi — purtătoare de sporangii. Sporii interni sînt conidiosporii. Ei sînt situaţi în lanţuri pe nişte picioruşe — conidiofori. Conidioforii pot avea diferite forme. Vîrful lor poate fi îngroşat în formă de bold *(Aspergillus)*, ramificat *(Penicillium, Botrytis)*; conidiosporii se pot transforma în zoosporangii, în care se formează numeroşi zoospori (spori înzestraţi cu flagele).

Sporii sexuaţi se formează în urma contopirii a două celule. Contopirea poate fi izogamă (contopire a două celule identice) şi oogamă (contopirea unei celule feminine cu o celulă masculină). In primul caz apare zigospora, sau zigotul, în al doilea — oospora.

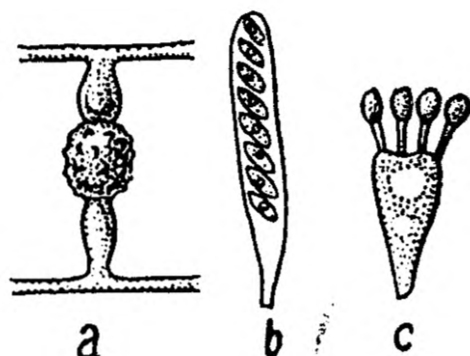
La ciuperci are loc un proces sexual caracteristic, ce constă în contopirea a două nuclee (cariogamie). Procesul începe cu celula dinucleară (dicarion). După contopirea nucleelor începe divizarea nucleului format din 4 sau 8 spori (fig. 7). Astfel apar ascosporii şi bazidiosporii. Ascosporii sînt spori interni. Ei se formează cîte opt în pungă sau ască. Bazidiosporii sînt spori externi, ce apar cîte patru odată, fiecare pe cîte un picioruş (sterigmă).

Majoritatea ciupercilor formează atît spori asexuaţi, cît şi spori sexuaţi, şi numai ciupercile imperfecte sînt lipsite de spori sexuaţi.

La ciupercile care formează ambele forme de spori are loc alternarea înmulţirii asexuate şi sexuate. Sporii asexuaţi sînt mai puţin rezistenţi la diferiţi factori nefavorabili, de aceea ei apar numai în condiţii favorabile şi servesc pentru răspîndirea speciei. Sporii sexuaţi sînt mai rezistenţi. Ei se formează în cantităţi mai mici şi servesc pentru păstrarea speciei (spre exemplu pentru iernare).

Unele ciuperci se înmulţesc prin scleroţi — nişte solidificări din hife şi clamidospori — solidificare a hifelor acoperită cu membrană.

Fig. 7. Organele înmulţirii sexuate ale ciupercilor:
a — zigotul; b — punga (asca); c — bazidia.



Aceste formaţiuni sînt destul de rezistente şi au capacitatea de a ierna.

Clasificarea ciupercilor. Specia ciupercilor *Fungi* se împarte în cinci clase:

clasa I — *Archimycetes* (arhimicete)
clasa a II-a — *Phycomycetes* (ficomicete)
clasa a III-ea — *Ascomycetes* (ascomicete)
clasa a IV-a — *Basidiomycetes* (bazidiomicete)
clasa a V-a — *Fungi imperfecti* (ciuperci imperfecte).

Primele două clase formează grupa ciupercilor inferioare, miceliul cărora e monocelular, celelalte sînt ciuperci superioare cu miceliu policelular.

Archimycetes sînt cele mai primitive ciuperci. Ele duc, de regulă, un mod de viaţă parazitar. Corpul lor reprezintă un cocoloş din protoplasmă. Membrana celulară lipseşte. Ea e înlocuită cu membrana celulei plantei-gazdă. Se înmulţesc prin zoospori. Din această clasă fac parte excitanţi înnegririi şi putrezirii răsadului de varză şi ai cancerului cartofului.

Phycomycetes — se deosebesc prin miceliul monocelular şi după tipul de spori sexuaţi se împart în două subclase: *Zygomycetes* ce se înmulţesc prin zigospori şi *Oomycetes* ce se înmulţesc prin oospori.

Din prima subclasă fac parte ciupercile mucorale — mucegai foarte răspîndit, iar din subclasa a doua fac parte ciupercile parazite *Plasmopara viticola* — excitantul bolii strugurilor mildiu şi *Phytophtora* parazitul cartofului.

Ascomycetes se caracterizează prin înmulţirea cu ascospori (spori sexuaţi). Inmulţirea asexuată are loc prin conidiospori. E o clasă vastă din care fac parte ciuperci cu pălărie, ciuperci parazite, mucegaiuri şi levuri. Unele *Ascomycetes* formează asce în corpuri fructifere, ele se numesc a s c o m i c e t i d e, altele au asce situate direct pe miceliu — acestea sînt gimnoascele. Din ascomicetide fac parte ciupercile comestibile — trufele, mucegaiurile — *Aspergillus* şi *Penicillium* şi unii paraziţi ai plantelor (cornuţii). Din gimnoasce face parte genul *Endomices* şi levurile.

Bazidiomycetes sînt ciuperci, ce se înmulţesc prin bazidiospori. Le aparţin majoritatea ciupercilor cu pălărie şi unii paraziţi ai plantelor (tăciunele, rugina).

Fungi imperfecţi se caracterizează prin lipsa sporilor sexuaţi. Majoritatea ciupercilor imperfecte se înmulţesc prin conidiospori, al-

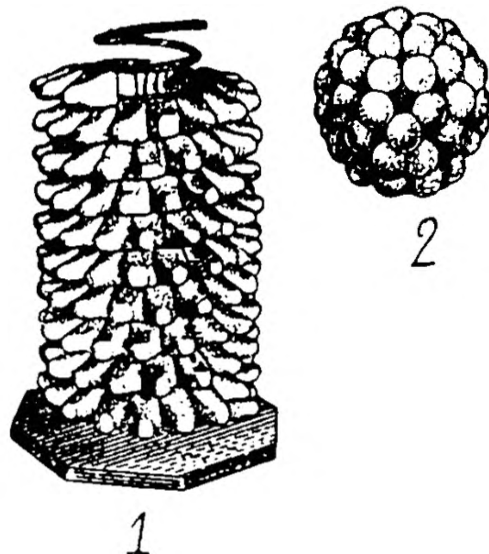


Fig. 8. Forme de viruşi:
1 — mozaicul tutunului;
2 — poliomielită.

tele — prin oidii, iar la unele dintre ele organele de înmulţire lipsesc. Din această clasă fac parte ciupercile de mucegai şi ciupercile-parazite *(Fuzarium)*.

§ 6. Viruşii

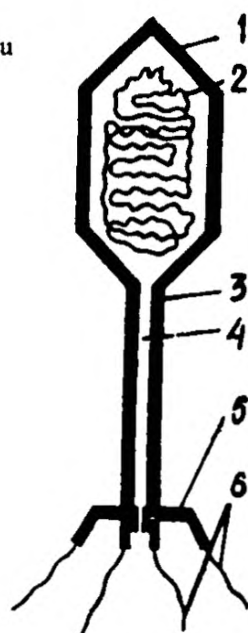
Invenţia microscopului electronic a făcut posibilă cercetarea celor mai mici organisme — viruşilor iş fagilor. Viruşii deseori sînt numiţi filtrabili datorită proprietăţii lor de a trece prin porii filtrelor bacteriologice, care reţin bacteriile în urma metodei de sterilizare mecanică. Viruşii au fost descoperiţi în anul 1892 de către botanistul rus D. I. Ivanovski în urma studierii bolii tutunului — mozaicul tutunului (fig. 8). Dimensiunile viruşilor variază de la 10—12 *nm*[1] (viruşii febrei aftoase, poliomielitei) pînă la 100—350 *nm* (viruşii variolei).

Viruşii nu au structură celulară. Ei pot avea diferite forme: sferică, de bastonaş, de fir şi spermatozoidală. Părticica virusală se numeşte v i r i o n. Ea constă din acizi nucleici (ADN sau ARN) şi proteina globulinei; unii viruşi mai conţin lipide şi hidraţi de carbon. O trăsătură caracteristcă a viruşilor e capacitatea lor de a forma cristale. Aceasta a servit drept cauză de discuţie asupra naturii vii sau moarte a viruşilor. Mai tîrziu a fost descoperit un şir de proprietăţi, care au servit drept dovadă a naturii vii a viruşilor şi anume: capacitatea de autoreproducere (de a se înmulţi), de variaţie, de a se adapta în mediul de existenţă şi de a provoca diferite procese infecţioase. Dezvoltarea şi înmulţirea viruşilor e posibilă numai în celulele organismului viu — gazdă, astfel ei sînt paraziţii omului, provocîndu-i boli infecţioase (gripa, poliomielita, pojarul, varicela etc.), ai animalelor şi plantelor.

Pentru tratarea multor boli, provocate de viruşii gripei, adenovi-

[1] *nm* — nanometru; $nm=10^{-6}$ mm.

Fig. 9. Schema structurii fagului:
1 — capul; 2 — ADN; 3 — lăstarul; 4 — pivotul; 5 — lamela bazală cu ghimpi; 6 — firele lăstarului.



ruşi sînt folosite preparate ale enzimelor — n u c l e a z e l e. Ele distrug acizii nucleici, lipsind viruşii de capacitatea de autoreproducere. Astfel ei îşi pierd proprietatea lor infecţioasă.

Viruşii pot fi paraziţi nu numai ai omului, animalelor şi plantelor, ci şi ai microorganismelor — ciupercilor, actinomicetelor, bacteriilor. Astfel de viruşi se numesc f a g i. Viruşii bacteriilor sînt numiţi b a c t e r i o f a g i, ai actinomicetelor—a c t i n o f a g i, ai ciupercilor — m i c o f a g i.

În anul 1898 savantul rus N. F. Gamalea, studiind antraxul animalelor cornute mari, pentru prima dată a observat, că bacilii, excitanţii bolii, se dizolvă sub influenţa unui agent. În anul 1917 microbiologul canadian F. D. Ereli a stabilit natura acestui fenomen numit b a c t e r i o f a g i e, iar excitanţii lui — b a c t e r i o f a g i (cel ce înghite bacteria).

Dimensiunile fagilor variază de la 40 pînă la 140 *nm*. Bacteriofagii au înfăţişarea unui c a p p o l i e d r i c, cu p i v o t, acoperit cu o membrană proteică (fig. 9). În interiorul pivotului se află un canal. Canalul fagului conţine o moleculă de ADN. La baza pivolului se află o l a m e l ă b a z a l ă cu ghimpi şi hife.

Acţiunea fagului asupra celulei bacteriale decurge în cîteva etape (fig. 10).

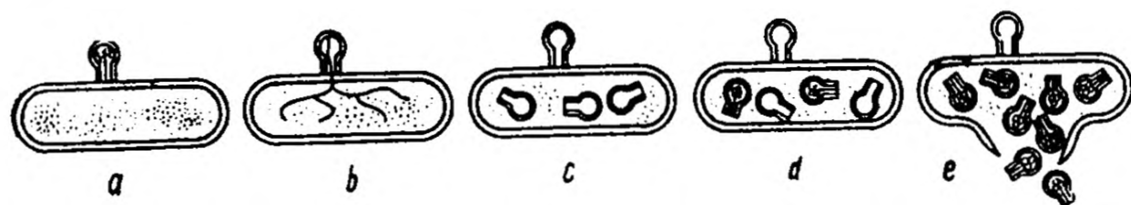


Fig. 10. Schema dezvoltării fagului în celula bacterială:
a — absorbţia; b — pătrunderea ADN în celulă; c — restructurarea metabolismului în celulă; d — formarea celulelor noi a bacteriofagilor; e — dizolvarea peretelui celulei.

Prin intermediul dinţilor şi hifelor lamelei bazale ale loc adsorbţia fagului pe celula bacterială, apoi ADN din capul fagului pătrunde prin canal în celula bacteriei, unde, mai apoi, are loc restructurarea totală a schimbului de substanţe sub influenţa ADN fagal — se sintetizează ADN nu bacterial, ci fagal, ceea ce duce la formarea noilor celule de fagi în celula bacterială, la dizolvarea peretelui ei şi, în sfîrşit, la pieire.

Bacteriofagii provoacă daune mari industriei prelucrării laptelui (producerii brînzeturilor, smîntînii şi margarinei). Sînt atacaţi în deosebi streptococii acidolactici şi maielelor destinate pentru prepararea acestor produse. Sub influenţa bacteriofagului celulele streptococilor se dizolvă şi pier. În industria antibioticelor actinofagii dizolvă cultura industrială a actinomicetelor — producătoare de antibiotice.

În medicină bacteriofagii se folosesc la tratarea unor boli, spre exemplu a dizenteriei.

CAPITOLUL 2
SCHIMBUL DE SUBSTANŢE AL MICROORGANISMELOR (metabolismul)

La baza activităţii vitale a microorganismelor, ca şi a tuturor fiinţelor vii, stă schimbul de substanţe (metabolizmul), care este totalitatea transformărilor chimice a substanţelor în celulă, ce decurg într-o interacţiune strînsă cu mediul ambiant. Schimbul de substanţe al microorganismelor constă din două tipuri de procese: procesele metabolismului constructiv şi ale celui energetic.

Metabolismul constructiv e biosinteza macromoleculelor polimere a celulei (proteinelor, polizaharidelor, acizilor nucleici, compuşilor peretelui celular etc.) pe contul substanţelor absorbite din mediul exterior.

Pentru efectuarea proceselor de biosinteză, transportării active a substanţelor din mediul nutritiv prin membrana citoplasmatică în celulă, înmulţirii microorganismelor e nevoie de energie. Microorganismele o capătă pe diferite căi, mai ales în rezultatul proceselor de oxidare a substanţelor organice şi minerale, absorbite de celulă. Acest proces se numeşte metabolism energetic. În rezultat se degajă energie, ce se rezervează sub formă de acid adenozintrifosforic (ATP), care mai tîrziu poate fi folosită de celulă.

Procesele constructoare şi energetice decurg în celulă simultan şi sînt strîns legate între ele. Deseori una şi aceeaşi substanţă serveşte ca materie primă şi pentru biosinteza substanţelor celulei şi pentru căpătarea energiei (spre exemplu hidraţii de carbon, acizii organici etc.).

Schimbul de substanţe al microorganismelor e foarte variat. Aceasta se explică prin faptul că microorganismele au capacitatea de

a folosi în metabolismul lor numeroşi compuşi organici şi minerali. Această capacitate se datoreşte fermenţilor diverşi ai microorganismelor.

§ 1. Enzimele microorganismelor şi rolul lor în schimbul de substanţe

Fermenţii (enzimele) sînt proteine, care joacă rolul de biocatalizatori şi se sintetizează în celulele microorganismelor. Unele enzime sînt proteine simple (proteine), altele — proteine compuse (proteide). Proteidele sînt enzime ce constau din două componente: una proteică şi una neproteică de diferită natură chimică. Componenţa neproteică poate să conţină vitamine (B_1, B_2, PP), metale (Fe, Cu, Mg, Co etc.), lipide, hidraţi de carbon etc. Partea proteică determina proprietăţile specifice ale enzimei, iar cea neproteică — activitatea catalitică a enzimei.

Întrucît enzimele sînt proteine, o condiţie importantă, care determină activitatea fermentului este temperatura. Pe măsura ridicării ei creşte şi viteza fermentativă a reacţiei pînă la o anumită limită, apoi viteza scade şi enzima încetează să mai activeze.

Temperatura optimă pentru manifestarea activităţii maxime a diferitelor enzime variază. Enzimele eliminate de către microorganismele psihrofile (iubitoare de frig) sînt active la temperaturi pozitive nu prea mari — 5—7°C; cele eliminate de microorganismele mezofile (iubitoare de temperaturi moderate) — la temperatura de 35—37°C şi cele eliminate de microorganismele termofile (iubitoare de căldură) — la 50—60°C. Încălzirea pînă la 80—100°C inactivează enzimele ireversibil din cauza denaturării proteinelor. La temperatura de 0°C activitatea fermentativă se întrerupe.

Asupra activităţii enzimei influenţează şi pH-ul soluţiei, la diferite valori ale pH-ului proprietăţile ei se schimbă. Spre exemplu, la bacteriile ce se dezvoltă în mediu acid activitatea maximă e cînd pH-ul este 4,8; la cele ce se dezvoltă în mediu neutru — la pH de 7,2. Asupra activităţii enzimelor mai acţionează şi alţi factori ai mediului ambiant—componenţa chimică a mediului, energia radiantă etc. Procesele fiziologice, ce au loc în celulele microorganismelor, în mare măsură depind de activitatea enzimelor. De aceea orice factor, care acţionează asupra enzimei, va acţiona şi asupra activităţii vitale a microorganismelor.

Enzimele sînt foarte active — cantităţi neînsemnate de enzime asigură viteza considerabilă a reacţiilor şi provoacă modificări mari ale substratului.

Aşa, bunăoară, molecula catalazei distruge timp de 1 min 5 mln de molecule ale peroxidului de hidrogen, iar 1 g de amilază în condiţii favorabile transformă în zahăr 1 t de amidon.

Spre deosebire de catalizatorii neorganici enzimele au o trăsătură caracteristică individuală — particularitatea pregnantă a substratului. Aceasta se explică prin faptul că fiecare enzi-

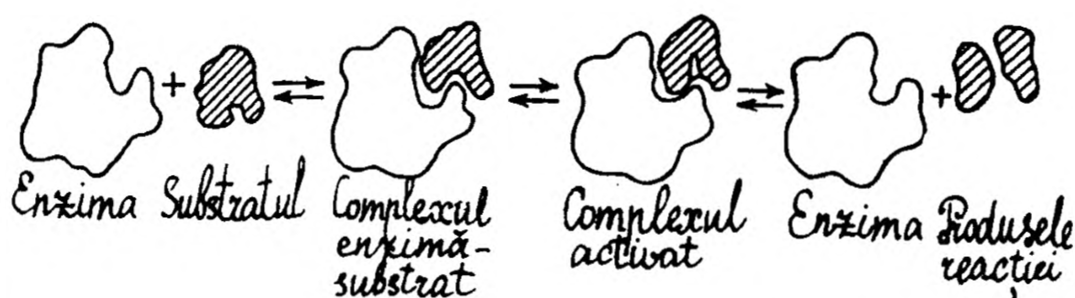


Fig. 11. Schema interacţiunii enzimei cu substratul

mă activează numai într-un anumit substrat. De exemplu, amilaza descompune numai amidonul, lactaza — lactoza, celulaza — celuloza etc. Asupra altor hidraţi de carbon aceste enzime nu acţionează. Caracterul specific al enzimelor este determinat de structura moleculară a enzimei şi a substratului.

Interacţiunea dintre enzimă şi substrat începe cu legătura între substrat şi componenţa proteică a enzimei. Astfel se formează un complex instabil enzimă-substrat. În rezultatul reacţiei, catalizate de enzima dată, acest complex se descompune, enzima şi produsele finite ale reacţiei se eliberează (fig. 11). Celulele microorganismelor conţin un număr mare de enzime, care sînt localizate pe diferite structuri ale celulei (mitocondrii, membrana citoplasmatică etc.).

Enzimele pot fi c o n s t i t u t i v e (parte componentă stabilă a celulelor) şi a d a p t i v e (formate de celulă numai în rezultatul schimbării condiţiilor de viaţă). În al doilea caz microorganismul sintetizează enzima, care mai înainte n-o producea.

După modul de acţiune enzimele se împart în e x o e n z i m e, care sînt eliminate de celulă în mediul ambiant, şi e n d o e n z i m e, ce sînt strîns legate cu structurile interne ale celulei şi acţionează în interiorul ei. Ambele joacă un rol important în activitatea vitală a microorganismelor.

După tipul celor mai importante procese biochimice, catalizate de enzime, ele se împart în şase clase:

I. O x i d o r e d u c t a z e l e (enzime de oxidoreducere). Joacă un rol important în procesele de fermentare şi respiraţie a microorganismelor, adică la metabolismul energetic. Printre ele sînt dehidrogenazele, sistemul citocromal, enzimele ce transferă hidrogenul şi electronii şi multe altele. Acestea sînt enzime cu două componente. După modul de acţiune sînt endoenzime.

II. T r a n s f e r a z e l e (enzime de transport). Catalizează trecerea grupelor atomare de la un compus la altul. Ele sînt endoenzime cu două componente. Printre ele sînt enzime, care transferă rămăşiţele acidului fosforic — f o s f o t r a n s f e r a z e l e. Din această clasă face parte şi h e x o c h i n a z a, care în prima etapă a fermentării şi respiraţiei catalizează transferarea restului acidului fosforic de la ATP, compus bogat în energie, la glucoză. Alte fosfotransferaze asigură fosforarea acidului piruvic, produs intermediar al fermen-

tării și respirației, și a altor compuși. Prin urmare, aceste enzime participă la metabolismul energetic al microorganismelor și datorită lor are loc transmiterea unei cantități mari de energie de la ATP glucozei acidului piruvic.

La metabolismul constructiv participă aminotransferazele, care transferă grupele amine (NH_2), de la aminoacizi la cetoacizi, în urma cărui fapt se formează alți aminoacizi necesari biosintezei proteinelor celulei microbiale.

III. Hidrolazele (enzime hidrolitice). Un grup vast de enzime unicomponente. Ele catalizează scindarea compușilor complicați (proteine, grăsimi și hidrați de carbon) cu participarea obligatorie a apei. Acestea sînt proteazele (scindează proteinele și polipeptidele pînă la aminoacizi); lipazele (hidrolizează grăsimile pînă la glicerină și acizi grași superiori); enzimele (scindează di- și polizaharidele); maltaza (scindează maltoza — zahărul de malț — în două molecule de glucoză); zaharaza (scindează zaharoza în glucoză și fructoză); lactaza (scindează lactoza—zahăr de lapte — în galactoză și glucoză). Hidrolazele care scindează polizaharidele sînt amilaza (hidrolizează amidonul), celulază (hidrolizează celuloza), pectinaza (hidrolizează substanțele pectice) etc.

Hidrolazele joacă un rol important în metabolismul microorganismelor. După modul de acțiune ele sînt exoenzime — celula le elimină în mediul ambiant și ele participă la scindarea compușilor macromoleculari în afara celulei, și anume a acelor compuși, care nu pot pătrunde în celulă din cauza dimensiunilor mici a porilor peretelui celulei și a membranei citoplasmatice (proteinele, grăsimile, polizaharidele etc.). Substanțele micromoleculare, formate în urma hidrolizei, din mediul nutritiv exterior pot pătrunde în celulă, iar mai apoi sînt supuse diferitelor transformări în timpul metabolismelor constructiv și energetic.

IV. Liazele. Cuprind enzimele cu două componente, care scindează de la substraturi anumite grupuri (CO_2 H_2O, NH_3 etc.) pe cale nehidrolitică (fără participarea apei). Spre exemplu, enzima piruvatdecarboxilaza scindează CO_2 de la acidul piruvic și formează aldehida acetică. Această enzimă joacă un rol important în procesele de fermentare și respirație a microorganismelor, adică în metabolismul energetic. Decarboxilării fermentative pot fi supuși și aminoacizii, în rezultatul căreia de la aminoacizi e scindat CO_2 și se formează amine, printre care se întîlnesc și toxice. Decarboxilaze de acest fel conțin bacteriile de putrefacție, care provoacă putrezirea substanțelor proteice. Tot decarboxilază e și enzima aldolaza, care joacă un rol important în primele etape ale fermentării și respirației (metabolismul energetic).

V. Izomerazele. Sînt enzime ce catalizează transformările reversibile ale compușilor organici în izomeri.

Izomerizării sînt supuși hidrații de carbon și derivații lor, acizii organici, aminoacizii etc. Enzimele acestui grup joacă un rol important în procesele de fermentare și respirație ale microorganisme-

lor. Din această clasă fac parte triozofosfatizomeraza, glucofosfatizomeraza etc.

VI. Ligazele (sintetazele). Sînt enzime ce catalizează sinteza substanţelor organice compuse din substanţe mai simple. Spre exemplu, asparaginsintetaza catalizează sinteza amidei asparagine din acid asparagic şi NH_3 cu participarea moleculelor ATP, care aprovizionează această sinteză cu energie. Carboxilaza catalizează adiţia CO_2 la diferiţi acizi organici cu participarea ATP etc. Ligazele joacă un rol important în metabolismul glucidic şi azotic al microorganismelor (metabolism constructiv).

§ 2. Compoziţia chimică a celulelor microorganismelor

Compoziţia substanţelor în celulele microorganismelor puţin diferă de cea a animalelor şi plantelor. Moleculele lor conţin 75—85% de apă şi 15—25% de substanţă uscată. Apa se află în stare liberă şi fixată. Apa fixată intră în componenţa coloizilor celulei (proteine, polizaharide etc.) şi cu greu se eliberează din ei. Apa liberă participă la reacţiile chimice, fiind dizolvantul diferiţilor compuşi, care se formează în celulă în procesul metabolismului.

Substanţa uscată a celulei e formată din substanţe organice şi minerale. Dacă cantitatea substanţei uscate va constitui 100%, atunci substanţelor minerale le revin 2—14%, iar partea rămasă revine proteinelor (pînă la 52%), polizaharidelor (pînă la 17%), acizilor nucleici (ARN pînă la 16%, ADN pînă la 3%) şi lipidelor (9%). Aceşti compuşi intră în componenţa diferitelor structuri celulare a microorganismelor şi îndeplinesc funcţii fiziologice importante.

Proteinele microorganismelor constau din aceeaşi aminoacizi, ca şi proteinele animalelor şi plantelor. Cea mai mare însemnătate o au nucleoproteidele — proteine legate cu acizi nucleici (ADN şi ARN). Ele sînt componente obligatorii ai nucleului şi ribozomilor. Nicleoproteidele joacă un rol important în procesul de creştere şi înmulţire a microorganismelor, de transmitere a caracterelor ereditare. Enzimele de asemenea sînt proteine.

La polizaharidele celulelor microorganismelor se referă atît glicogenul şi granuloza, care sînt substanţe nutritive de rezervă, cît şi dextranele şi levanii, care formează capsula bacteriilor. Unele polizaharide (celuloza etc.) intră în componenţa peretelui celular.

Lipidele intră în componenţa peretelui celular şi a membranei citoplasmatice. Ele se depun în celule ca substanţe de rezervă.

Celulele microorganismelor conţin şi alte substanţe: acizi organici, sărurile lor, pigmenţi, vitamine etc.

Componenţa elementară a celulelor microorganismelor e foarte variată. Ea e reprezentată mai jos (în % de substanţa uscată):

Carbon	50	Natriu	1
Oxigen	20	Calciu	0,5
Azot	14	Magneziu	0,5
Hidrogen	8	Clor	0,5

Fosfor	3	**Fier**	0,2
Sulf	1	Celelalte	
Kaliu	1	elemente	0,3

Aceste elemente joacă un rol fiziologic. Carbonul, oxigenul, azotul și hidrogenul intră în componența tuturor organismelor vii fără excepție și sînt numite organogene. Ele sînt elementele chimice principale, care alcătuiesc baza substanțelor organice; hidrogenul și oxigenul intră în componența apei; oxigenul e necesar pentru respirația microorganismelor aerobe. O funcție fiziologică importantă o au și fosforul, și sulful. Fosforul intră în componența unui șir de compuși organici importanți — acizilor nucleici, fosfolipidelor ATP etc. Fără acest element dezvoltarea microorganismelor e imposibilă. Sulful e necesar pentru sinteza aminoacizilor, în componența cărora intră sulful (cistina, cisteina, homocisteina, metionina), fără de care e imposibilă sinteza proteinelor.

Aceste șase elemente alcătuiesc 90—98% substanță uscată a celulelor, dintre care carbonului îi revin 50%, restul altor elemente. Aceste elemente intră în componența neproteică a diferitelor enzime, iar unele dintre ele îndeplinesc și alte funcții. O mare importanță au kaliul, magneziul, calciul, fierul.

Componența chimică a celulelor microorganismelor determină necesitatea substanțelor nutritive pentru dezvoltarea lor și dau posibilitatea de a determina însemnătatea unor elemente chimice și a compușilor în activitatea lor vitală.

§ 3. Nutriția microorganismelor

Metabolismul e strîns legat de procesul de nutriție al microorganismelor. Diversele substanțe de care are nevoie microorganismul și pe care le consumă din mediul ambiant pentru biosinteza principalelor substanțe organice ale celulei, pentru creștere, înmulțire și pentru căpătarea energiei, se numesc n u t r i t i v e, iar mediul în care se află — m e d i u n u t r i t i v. Deși necesitatea microorganismelor în substanțe nutritive e foarte diversă, mediul nutritiv trebuie să dispună absolut de toate elementele ce se conțin în celulele microorganismelor. In dependență de elementele, ce le conțin, mediile nutritive sînt numite i z v o a r e ale g l u c i d e l o r, a z o t u l u i, s u l f u l u i etc. Sursă a hidrogenului și oxigenului pentru toate microorganismele este apa. Drept sursă a celorlalte elemente, în afară de carbon și azot, sînt sărurile minerale. Așa, bunăoară, sursa kaliului și fosforului e K_2HPO_4, a magneziului și sulfului — $MgSO_4$ fierului — $FeCl_3$ etc. Ca sursă a carbonului și azotului pot fi atît substanțele minerale, cît și cele organice.

În dependență de atitudinea față de sursele carbonului microorganismele se împart în două grupe mari: autotrofi și heterotrofi. Corespunzător și modul de alimentație a microorganismelor e numit autotrof sau heterotrof.

Microorganismele, care folosesc carbonul pentru biosinteza sub-

stanţelor celulei din surse neorganice (CO_2), sînt numite a u t o t r o f e. Microorganismele, pentru care CO_2 nu poate servi ca sursă unică a carbonului, ci mai au nevoie şi de compuşi organici, sînt numite h e t e r o t r o f e. Majoritatea microorganismelor sînt heterotrofe. Noţiunile de autotrofie şi heterotrofie caracterizează tipul metabolismului constructiv.

Majoritatea microorganismelor heterotrofe la biosinteza substanţelor celulei folosesc ca sursă a carbonului în fond glucidele, alcoolii, lipidele, proteinele, scheletul carbonic al aminoacizilor şi rareori acizii organici.

In afară de carbon un rol important în biosinteza proteinelor celulei îl joacă azotul. Autotrofii folosesc azotul compuşilor minerali, dintre care cele mai bune sînt sărurile de amoniu. Heterotrofii pot folosi compuşi diverşi. Pentru mulţi din ei, cele mai bune surse ale azotului sînt sărurile de amoniu, mai ales ale acizilor organici, şi nitraţii. Există heterotrofi, care au capacitatea de a asimila azotul molecular din aer (N_2) şi de a prelucra din el compuşii azotici ai celulei. Alţi heterotrofi folosesc în calitate de sursă a azotului substanţele organice (aminoacizii şi peptonele). Aceşti compuşi pot servi concomitent drept sursă a carbonului, azotului, sulfului cît şi a energiei. Proteinele sînt substanţe macromoleculare şi nu pot pătrunde în celula microbială, de aceea proteinele pot fi utilizate numai de acele microorganisme, care elimină în mediu enzime proteolitice, capabile de a scinda proteinele pînă la aminoacizi, care, prin urmare, nemijlocit sînt folosiţi de către celulă.

În afară de substanţele nutritive de bază microorganismele heterotrofe mai necesită şi prezenţa altor substanţe în mediu şi anume a factorilor de creştere (vitamine, aminoacizi, baze piridice şi purinice), care nu se pot sintetiza. Factorii de creştere nu trebuie priviţi ca stimulatori ai creşterii. Ei sînt necesari microorganismelor în cantităţi foarte mici şi sînt folosiţi la biosinteza diferiţilor componenţi ai celulei. Vitaminele sînt necesare pentru sinteza diferitelor enzime, aminoacizii — pentru sinteza proteinelor, bazele purinice şi piridice — pentru sinteza ARN şi ADN.

Divizarea microorganizmelor după modul de alimentaţie în autotrofi şi heterotrofi e convenţională, aşa cum printre ele există grupe de trecere. Autotrofii sînt un grup comparativ mic de microorganisme, care joacă un rol important un circulaţia substanţelor în natură. În industria alimentară ele nu au nici o însemnătate.

Majoritatea microorganismelor sînt heterotrofi. Printre ele sînt microorganisme, care se deosebesc radical prin necesitatea de substanţe nutritive. În legătură cu aceasta ele se împart în două grupe: s a p r o f i ţ i şi p a r a z i ţ i.

S a p r o f i ţ i i se alimentează pe contul substanţelor organice ale diferitelor substraturi de origine animală şi vegetală. Unele dintre ele descompun rămăşiţele animalelor şi plantelor moarte şi au o importanţă colosală în circuitul substanţelor în natură. Altele duc la alterarea produselor alimentare sau sînt folosite în industria alimentară la procesele de prelucrare a materiei prime vegetale şi

animale. Majoritatea heterotrofilor sînt saprofiţi (bacterii, ciuperci, levuri.

Paraziţii se alimentează pe contul substanţelor organice ale organismelor vii. Paraziţi sînt microorganismele patogene, inclusiv şi viruşii, care provoacă bolile omului, animalelor, plantelor, şi fagii.

§ 4. Mecanismul pătrunderii substanţelor nutritive în celula microorganismelor

Substanţele nutritive, pentru a putea participa la procesele metabolismului celulei, mai întîi trebuie să nimerească în ea. Toate transformările substanţelor au loc în celulă. Absorbţia substanţelor nutritive şi a apei în celulă şi eliminarea produselor metabolismului în mediul ambiant are loc prin toată suprafaţa celulei.

Substanţele mediului nutritiv pot fi absorbite de celulă numai în stare dizolvată şi tot în stare dizolvată sînt eliminate din ea produsele activităţii vitale. Polimerii organici macromoleculari (proteinele, polizaharidele etc.) şi lipidele în prealabil se descompun în afara celulei în compuşi micromoleculari — monomeri, solubili în apă (aminoacizi, monozaharide, acizi organici etc.). Trecerea compuşilor macromoleculari în compuşi micromoleculari are loc cu ajutorul exoenzimelor, eliminate de celulele microorganismelor în mediul ambiant. Aceste enzime fac parte din clasa hidrolazelor. Proteinele sînt scindate de către protează, grăsimile — de lipază, celuloza — de celulază, amidonul — de amilază, substanţele pectice de pectinază etc.

Absorbţia sărurilor minerale în celulă depinde de gradul de disociaţie a sărurilor în ioni, de pH-ul mediului, de sarcina membranei citoplasmatice (MCP). Dacă MCP are sarcină pozitivă, atunci în ea mai uşor pătrund ioni cu sarcină negativă. Permeabilitatea celulelor microorganismelor pentru diferite substanţe variază în dependenţă de bariera dublă a celulelor în dezvoltare normală — peretele celular şi membrana citoplasmatică. Peretele celular al microorganismelor este barieră pentru compuşii macromoleculari (proteine, polizaharide etc.) şi e uşor permeabil pentru compuşii micromoleculari şi ioni, ceea ce e legat de porii lui de difuzie foarte mici.

Una din principalele bariere ale transportării (pătrunderii) substanţelor în celulă este membrana citoplasmatică, deoarece pe de o parte MCP e semipermeabilă (apa pătrunde prin ea mult mai uşor ca sărurile), iar pe de altă parte, MCP posedă o permeabilitate selectivă, adică nu toate substanţele dizolvate pot pătrunde prin ea liber. MCP reglează nu numai pătrunderea în celulă, ci şi eliminarea din ea a apei şi a diferitor produse metabolice şi a ionilor, ceea ce asigură activitatea vitală normală a celulei. Transportarea substanţelor se efectuează prin porii mici ai MCP.

Există cîteva mecanisme de transportare a substanţelor nutritive în celulă. Cel mai simplu este difuzia pasivă. Forţa

motrică a acestui proces este gradientul concentraţiei substanţei, adică diferenţa concentraţiei de pe ambele părţi ale MCP — în mediul ambiant şi în interiorul celulei. Moleculele de apă, unor gaze (O_2, H_2, N_2), unii ioni, concentraţia cărora în mediul ambiant e mai mare decît în interiorul celulei, pătrund prin MCP în interiorul celulei anume pe calea difuziei pasive. Pătrunderea pasivă a substanţelor continuă pînă cînd concentraţia substanţelor de pe ambele părţi ale MCP se egalează. Apa este substanţa principală ce pătrunde în celulă prin difuzie pasivă. Apa din celulă împinge citoplasma şi MCP spre peretele celulei, rezultatul cărui fapt apare o presiune internă asupra peretelui ei, numită turgor, care împiedică pătrunderea de mai departe a apei în celulă. În stare de turgor celulele tuturor fiinţelor vii, inclusiv şi a microorganismelor, manifestă o activitate vitală mai intensă. Iată de ce rolul apei în viaţa microorganismelor e atît de mare. Difuzia pasivă decurge fără cheltuieli de energie din partea celulei. Viteza acestui proces e neînsemnată.

Marea majoritate a substanţelor mediului nutritiv pot pătrunde în celulă numai cu participarea transmiţătorilor — unor proteine specifice, localizate pe MCP, care circulă între straturile intern şi extern ale ei. Ele efectuează şi eliminarea din celulă a substanţelor metabolismului. Transmiţătorii posedă o selectivitate strictă faţă de substrat, adică fiecare din ei transportă o anumită substanţă. Ei interacţionează cu substanţa în exteriorul MCP şi complexul format difuzează prin MCP spre partea ei internă, apoi complexul se descompune şi substanţa e transmisă citoplasmei. Apoi transmiţătorii «capturează» anumite substanţe metabolice, le scot din celulă şi procesul se repetă. Astfel în celulă nimeresc din mediul nutritiv numai acele substanţe, pentru care în MCP există transmiţători corespunzători. Prin aceasta se şi manifestă permeabilitatea selectivă a MCP.

Cu ajutorul transmiţătorilor are loc trecerea substanţelor dizolvate în mediul nutritiv prin difuzie simplificată şi prin transport activ.

Difuzia simplificată se petrece în direcţia gradientului de concentraţie. Ca şi cea pasivă ea decurge fără cheltuieli de energie, dar cu viteză mare.

Transportarea activă a substanţelor decurge împotriva gradientului de concentraţie, adică de la o concentraţie mai mică spre o concentraţie mai mare, ceea ce necesită neapărat cheltuieli de energie. Nimerind în interiorul celulei, substanţa se eliberează de transmiţător tot cheltuind energie. În cazul transportării active viteza de trecere a substanţei în interiorul celulei e maximă chiar şi la o concentraţie neînsemnată a ei în mediul nutritiv, iar concentraţia acestei substanţe în celulă poate cu mult depăşi concentraţia ei în mediul nutritiv.

Procarioţii şi eucarioţii se deosebesc după mecanismul transportării: la procarioţi absorbţia selectivă a substanţelor nutritive se efectuează pe calea transportării active, iar la eucarioţi — pe calea

difuziei simplificate. Eliminarea produselor metabolismului din celulele microorganismelor se înfăptuieşte mai des pe calea difuziei simplificate.

§ 5. Metabolismul constructiv ᵛ

Metabolismul constructiv constă în biosinteza compuşilor celulari din substanţele mediului nutritiv, ce au nimerit în celulă. La studierea componenţei chimice a microorganismelor s-a constatat că cea mai mare parte a masei substanţelor organice constă din macromolecule (polizaharide, lipide, proteine, acizi nucleici), care, cu excepţia lipidelor, sînt polimeri. Formarea polimerilor e precedată de sinteza monomerilor. Pentru biosinteza polizaharidelor monomerii necesari sînt monozaharidele, pentru proteine — aminoacizii, pentru acizii nucleici — ribo- şi dezoxiribonucleotidele. Monomerii pot fi sintetizaţi de către celulă din compuşi mai simpli sau nimeresc în ea din mediul nutritiv.

Cu cît organismul necesită mai mulţi compuşi gata din exterior, cu atît e mai redusă capacitatea lui de biosinteză. Capacitatea de biosinteză a microorganismelor heterotrofe este redusă din cauza necesităţii sporite de substanţe organice gata. Spre deosebire de heterotrofi, autotrofii au o capacitate de biosinteză mai înaltă, ei sintetizează din bioxidul de carbon mai întîi monomeri, apoi toţi componenţii complicaţi.

§ 6. Metabolismul energetic ✓

Pentru transportarea substanţelor nutritive prin MCP, biosinteza din ele a componenţilor principali ai celulei, pentru înmulţire, mişcare etc. microorganismele necesită energie.

S u r s e l e d e e n e r g i e. Microorganismele pot utiliza două feluri de energie: a luminei zilei şi chimică, căpătată în urma oxidării diferiţilor compuşi reduşi.

Microorganismele, sursa de energie a cărora e lumina, sînt numite f o t o t r o f i. Microorganismele, sursa de energie a cărora sînt procesele de oxidare a compuşilor chimici, sînt numite c h e m o t r o f e.

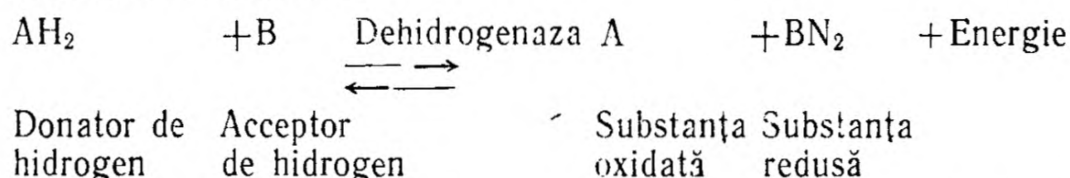
Microorganismele pot oxida unii compuşi neorganici reduşi şi oricare compus organic natural redus. Microorganismele pot oxida substanţele toxice (fenolul), materialele sintetice (masa plastică, cauciucul sintetic etc.) şi chiar asfaltul, bitumul etc. Compuşii organici macromoleculari în prealabil hidrolizează (scindează) cu ajutorul exoenzimelor pînă la monomeri. În urma proceselor de hidroliză celula nu primeşte energie. Monomerii sînt supuşi oxidării printr-un şir de procese fermentative. În rezultatul acestor reacţii complicate în celulă se acumulează energie.

Substanţele organice se oxidează prin cedarea hidrogenului — dehidrogenare. Aşa cum hidrogenul constă din proton şi electron, transportarea hidrogenului de la o substanţă la alta include în sine

şi transportarea electronului. Substanţa, care cedează electroni sau hidrogen, e numită **d o n o r**, iar substanţa care îi adiţionează — **a c c e p t o r**. De aceea termenii oxidare şi dehidrogenare, donor de electroni şi donor de hidrogen, acceptor de electroni şi acceptor de hidrogen sînt sinonime. Oxidare este şi procesul de adiţie a oxigenului de către substanţe.

Hidrogenul şi electronii, rupţi de la substratul oxidat (donor), nu sînt duşi la acceptorul final direct, ci treptat, cu ajutorul diferitelor enzime de oxidoreducere. Astfel de enzime sînt dehidrogenazele, care transportă hidrogenul, şi enzimele sistemului citocromal — **c i t o c r o m e l e   ş i   c i t o c r o m o x i d a z a**, care transportă electronii. Dehidrogenazele şi sistemul citocromal formează aşa-numitul **l a n ţ   d e   r e s p i r a ţ i e**. Deoarece transportarea hidrogenului şi a electronilor sînt procese echivalente, lanţul de respiraţie e considerat lanţ de transmitere a electronilor. Ultima enzimă a acestui lanţ este citocromoxidaza. Ea transmite electroni oxigenului molecular, în urma cărui fapt el se activizează şi capătă proprietatea de a se uni ci ionii hidrogenului, formînd apa.

Reacţia de oxido-reducere cu participarea dehidrogenazelor poate fi redată schematic:



Comportarea microorganismelor faţă de oxigenul molecular. Comportarea microorganismelor faţă de oxigenul molecular e determinată de garnitura enzimelor de oxidoreducere. În dependenţă de metoda de acumulare a energiei şi de acceptorul final al hidrogenului microorganismele pot fi împărţite în trei grupuri fiziologice după comportarea lor faţă de oxigenul molecular: aerobe obligate, anaerobe obligate şi anaerobe facultative.

A e r o b e l e   o b l i g a t e cresc numai în prezenţa O_2. Din acest grup fac parte unii autotrofi şi majoritatea heterotrofilor (spre exemplu bacteriile acetice, de putrefacţie, actinomicetele, ciupercile miceliale şi unele levuri). Printre aerobele obligate se întîlnesc **m i c r o a e r o f i l i i**, care se dezvoltă normal atunci, cînd concentraţia O_2 e joasă — aproximativ 20%. Microorganismele heterotrofe aerobe oxidează substanţele organice în prezenţa oxigenului molecular, care şi este acceptorul final al hidrogenului. Autotrofele oxidează substanţele minerale prin combinarea directă cu oxigenul.

A n a e r o b e l e pentru dezvoltare nu necesită prezenţa O_2. Procesele lor energetice şi constructive decurg fără participarea oxigenului molecular. Ca acceptori finali servesc substanţele organice şi neorganice. Anaerobele, la rîndul lor, se împart în **o b l i g a t e** şi **f a c u l t a t i v e**. Cele obligate nu suportă prezenţa O_2 în mediu chiar şi în cantităţi neînsemnate. Pentru ele oxigenul e toxic. La anaerobele obligate se referă bacteriile butirice, provocatorii intoxicării alimentare grave — botulismului etc. Anaerobele facultative pot creş-

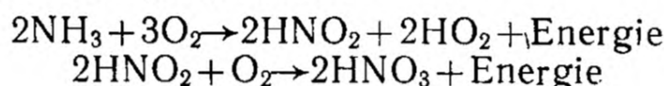
te atît în prezența O_2, cît și în lipsa lui, de exemplu bacteriile grupului intestinal, bacteriile lactice, majoritatea levurilor, o parte din bacteriile de putrefacție.

Începutul procesului de oxidare e legat de acțiunea dehidrogenazei asupra substratului oxidat corespunzător, indiferent participă în el oxigenul molecular sau nu. De aceea absolut toate microorganismele (și anaerobe, și aerobe) conțin dehidrogenaze. Citocrome conțin aerobele și anaerobele facultative, dar nicicînd nu se întîlnesc la anaerobele obligate. Citocramoxidază conțin numai aerobele, de aceea ele au capacitatea de a efectua oxidarea deplină a substratului pînă la CO_2 și H_2O.

§ 7. Modurile de existență și tipurile metabolismului microorganismelor

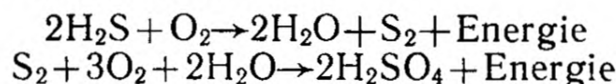
În dependență de modul acumulării energiei și a sursei de carbon toate microorganismele se împart în chemoautotrofe, fotoautotrofe, chemoheterotrofe și fotoheterotrofe.

Chemoautotrofele sînt microorganisme care, pentru sinteza substanțelor organice din sursa neorganică a carbonului — CO_2, folosesc energia chimică, degajată la oxidarea substanțelor neorganice (amoniacul, sulfura de hidrogen, protoxidul de fier Fe^{2+} etc.). Din ele fac parte bacteriile nitrifiante, teonice, ferobacteriile, sulfobacteriile incolore. Nitrobacteriile oxidează amoniacul (NH_3) pînă la acidul azotos, apoi pînă la cel azotic:



$$2NH_3 + 3O_2 \rightarrow 2HNO_2 + 2HO_2 + \text{Energie}$$
$$2HNO_2 + O_2 \rightarrow 2HNO_3 + \text{Energie}$$

Sulfobacteriile incolore oxidează sulfura de hidrogen (H_2S) pînă la sulf, apoi pînă la acidul sulfuric:



$$2H_2S + O_2 \rightarrow 2H_2O + S_2 + \text{Energie}$$
$$S_2 + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4 + \text{Energie}$$

Fotoautotrofele sînt microorganismele care folosesc energia luminoasă la sinteza substanțelor organice ale celulei din sursa neorganică a carbonului — CO_2. Ele au niște pigmenți specifici de tipul clorofilei, cu ajutorul cărora asimilează și transformă energia luminoasă. Acestea sînt sulfobacteriile purpurii și verzi.

Chemoheterotrofele sînt microorganisme, care folosesc energia chimică, degajată în urma oxidării substanțelor organice. Pentru sinteza substanțelor celulelor ele utilizează ca sursă a carbonului compuși organici gata. La ele se referă majoritatea microorganismelor. Ele sînt larg răspîndite în natură. Activitatea lor vitală are o mare însemnătate în circuitul substanțelor în natură. Unele duc la alterarea produselor alimentare, altele în procesul metabolismului formează produse, ce prezintă interes practic și de aceea sînt folosite în diferite ramuri de producție, bazate pe activitatea vitală a acestor microorganisme.

Fotoheterotrofele sînt microorganismele care folosesc

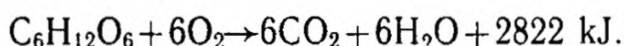
energia luminoasă, iar ca sursă a carbonului — compuşi organici.

Acumularea energiei de către chemoheterotrofe. Ca sursă de energie poate servi un şir de substanţe organice, îndeosebi glucidele, alcoolii (monoatomar — alcoolul etilic, triatomar — glicerina, hexoatomar — sorbita, manita etc.), aminoacizii, purinele, piridinele, grăsimile, acizii organici etc. Majoritatea chemoheterotrofelor acumulează energie şi sintetizează carcasa carbonică a substanţelor celulelor lor din unul şi acelaşi compus organic.

Sînt cunoscute 4 moduri de acumulare a energiei de către chemoheterotrofe: respiraţia aerobă, oxidarea parţială, fermentarea şi respiraţia anaerobă. La baza tuturor acestor moduri stau procesele oxidării biologice a substanţelor organice. Ele se deosebesc prin acceptorii finali ai hidrogenului (electronilor). De gradul de oxidare a substanţelor organice depinde cantitatea de energie, acumulată de celulă şi de legăturile macroenergice ale ATP, cît şi cantitatea de energie liberă (termică sau de altă categorie) degajată. Oxidarea poate fi deplină şi parţială.

În condiţii aerobe în prezenţa oxigenului poate avea loc atît oxidarea deplină a substanţelor organice (respiraţia aerobă) cît şi parţială. În condiţii anaerobe (în lipsa oxigenului molecular) are loc oxidarea parţială (fermentarea), iar oxidarea substanţelor organice legate cu oxigen decurge deplin.

R e s p i r a ţ i a a e r o b ă. În timpul respiraţiei drept donori ai hidrogenului servesc substanţele organice, care se oxidează, iar ca acceptor final al hidrogenului serveşte oxigenul molecular. În urma respiraţiei are loc oxidarea deplină a substanţelor organice pînă la compuşi minerali — bioxidul de carbon şi apa, şi se degajă o cantitate mare de energie termică:

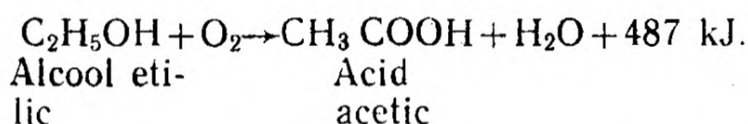


$$C_6H_{12}O_6+6O_2 \rightarrow 6CO_2+6H_2O+2822 \text{ kJ}.$$

Această cantitate de energie corespunde rezervei totale a energiei libere, a unei molecule-gram de glucoză. Astfel acumulează energie multe bacterii aerobe şi unele drojdii, folosite la producerea levurilor de pîine şi furajere.

La respiraţia aerobă aproximativ 50% din energie se pierde sub formă de căldură. Iată prin ce se explică fenomenul de termogeneză — autoîncălzirea îngrămădirilor vegetale mari, puhave, bine aerate (fîn, boabe, furaj însilozat, gunoi, turbă etc.), ce duce uneori la autoaprinderea lor.

O x i d a r e a p a r ţ i a l ă a s u b s t a n ţ e l o r o r g a n i c e. În condiţii aerobe oxidarea substanţelor organice nu poate avea loc pînă la CO_2 şi H_2O, ci pînă la formarea unor produse oxidate intermediare şi a apei (H_2O). Ca şi la respiraţia aerobă donori ai hidrogenului sînt substanţele organice, iar acceptor e oxigenul molecular. În urma acestui proces se degajă mult mai puţină energie. Această metodă de căpătare a energiei poartă denumirea de o x i d a r e p a r ţ i a l ă, spre exemplu, oxidarea alcoolului etilic pînă la acid acetic de către bacteriile acetice:

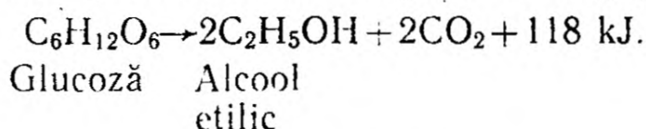


$$C_2H_5OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O + 487 \text{ kJ.}$$

Alcool etilic — Acid acetic

Molecula de spirt conţine mult mai multă energie (1369 kJ). În cazul de faţă are loc oxidarea parţială, de aceea se degajă energie mai puţină (487 kJ), restul energiei libere din molecula spirtului rămîne în produsul oxidării parţiale — acidul acetic. Oxidarea parţială a glucidelor e caracteristică multor ciuperci miceliale. Ciupercile le oxidează cu formarea acizilor organici citric, gluconic, oxalic etc.

F e r m e n t a r e a. Ea este oxidarea parţială a substanţelor organice în condiţii anaerobe. Drept donatori şi acceptori ai hidrogenului servesc substanţele organice — produse intermediare ale fermentării, care în rezultatul ei se reduc. În urma fermentării se degajă mult mai puţină energie decît în rezultatul oxidării unei molecule-gram de glucoză în condiţii aerobe, de exemplu în urma fermentării alcoolice, provocată de drojdii, se degajă doar 118 kJ:



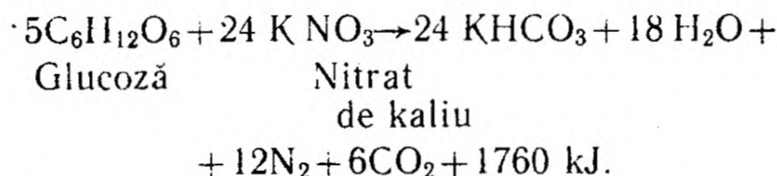
$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 118 \text{ kJ.}$$

Glucoză — Alcool etilic

În procesul altor tipuri de fermentări (lactică, butirică etc.) are loc de asemenea degajarea parţială a energiei glucozei, deoarece o parte a energiei libere trece în produsele reduse ale fermentării care se acumulează în mediu.

R e s p i r a ţ i a a n a e r o b ă. Un număr mic de bacterii (de denitrificare, de desulfitare) în condiţii anaerobe oxidează donorii hidrogenului, substanţele organice nu cu ajutorul oxigenului molecular, ci folosind oxigenul legat de moleculele nitraţilor şi sulfaţilor. Aceste substanţe neorganice, bogate în oxigen, sînt acceptori ai hidrogenului.

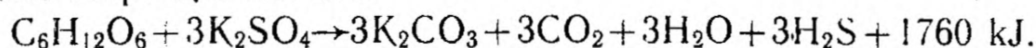
Respiraţia anaerobă poate fi de două feluri: nitrată şi sulfată. Oxidarea compuşilor organici cu ajutorul oxigenului nitraţilor se numeşte respiraţie nitrată:



$$5C_6H_{12}O_6 + 24\,KNO_3 \rightarrow 24\,KHCO_3 + 18\,H_2O + 12N_2 + 6CO_2 + 1760 \text{ kJ.}$$

Glucoză — Nitrat de kaliu

Oxidarea substanţelor organice cu ajutorul oxigenului sulfaţilor este respiraţia sulfată:



$$C_6H_{12}O_6 + 3K_2SO_4 \rightarrow 3K_2CO_3 + 3CO_2 + 3H_2O + 3H_2S + 1760 \text{ kJ.}$$

Glucoză — Sulfat de kaliu

Procesul respiraţiei anaerobe este însoţit de degajare abundentă a energiei.

CAPITOLUL 3

CULTIVAREA ŞI CREŞTEREA MICROORGANISMELOR

Creşterea microorganismelor în medii nutritive se numeşte *cultivare*, iar microorganismele care se dezvoltă în astfel de medii se numesc *culturi*. La cultivare are loc creşterea culturii — proces fiziologic, în rezultatul căruia sporeşte biomasa (numărul de celule a microorganismului dat).

Pentru cultivarea microorganismelor se folosesc **mediile nutritive**, ce conţin toate substanţele nutritive, necesare pentru metabolismul energetic şi constructiv, şi care constituie mediul lor de trai. De aceea mediile nutritive trebuie să corespundă anumitor condiţii fizico-chimice optime (temperatura, aerarea, aciditatea etc.), în care schimbul de substanţe dintre celulele microorganismelor şi mediu să se desfăşoare intensiv.

§ 1. Tipurile principale ale mediilor nutritive

După componenţa lor deosebim medii nutritive naturale şi sintetice.

Mediile naturale sînt mediile ce constau din produse vegetale sau animaliere. Baza acestor medii o alcătuiesc sucurile de fructe şi legume, ţesuturile animaliere (carnea, peştele, ficatul etc.), sîngele diluat, fierturile sau extrasele, căpătate din substrate naturale (carne, malţ, cartofi, sol, drojdii etc.). Pe mediile naturale se dezvoltă majoritatea microorganismelor, deoarece ele conţin toţi componenţii necesari pentru creştere şi dezvoltare. Mediile naturale sînt folosite în special pentru menţinerea culturii microorganismelor şi pentru acumularea biomasei. Însă conţinutul chimic al acestor medii e complicat şi inutil pentru studierea metabolismului microorganismelor. Ca mediu natural în laboratoare cel mai frecvent sînt folosite bulionul peptonat, semifabricatul de bere, mediile de drojdii şi cartofi, extractul edafic.

Mediile sintetice sînt acele medii, în componenţa cărora intră anumiţi compuşi chimici curaţi, luaţi în cantităţi strict determinate. Mediile sintetice sînt mult mai comode pentru cercetarea metabolismului microorganismelor. Cunoscînd componenţa şi cantitatea exactă a componenţilor mediului, poate fi studiat consumul şi transformările lor în procesul metabolismului.

În prezent microbiologii au la dispoziţie destule medii sintetice, care după proprietăţile lor complicate nu cedează mediilor naturale.

Mediile semisintetice sînt medii cu componenţă neprecisă. Principalele părţi componente ale lor sînt compuşi cunoscuţi (glucide, săruri amoniacale, nitraţi, fosfaţi etc.), iar componenţii cu conţinut chimic neprecis (extract de porumb, autolizat de drojdii, hidrolizat de cazeină etc.) intră în cantităţi mizerabile. Aşa medii sînt folosite pe larg în biotehnologia aminoacizilor, vitaminelor, antibioticelor etc.

După menirea lor sînt cunoscute medii elective și diferențial-diagnostice.

M e d i i l e e l e c t i v e sînt destinate pentru eliminarea culturilor selecționare a microorganismelor din mediile viețuirii lor obișnuite (apă, sol, produse alimentare etc.).

M e d i i l e d i f e r e n ț i a l - d i a g n o s t i c e sînt medii cu ajutorul cărora e posibilă deosebirea (diferențierea) rapidă a diferitelor microorganisme. Componența lor se alege reieșind din astfel de considerente, ca proprietățile caracteristice ale fiecărei specii să fie evidențiate cît mai precis. Ca exemplu poate servi mediul Endo pentru diferențierea colibacililor din substraturile naturale (apă, produse alimentare). Colibacilii formează pe acest mediu colonii zmeurii cu luciu metalic. Mediile diferențial-diagnostice sînt folosite pe larg în microbiologia medicinală și cea de igienă pentru diferențierea rapidă a unor grupe de microorganisme.

Mediile nutritive pot fi lichide, solide și pulverulente. La baza m e d i i l o r l i c h i d e stă apa. Din ele fac parte fierturile, extractele (medii naturale) sau soluțiile substanțelor chimice și a altor componenți (medii sintetice și semisintetice).

M e d i i l e s o l i d e se capătă în urma adăugării gelatinei sau agar-agarului (substanță dobîndită din algele marine, care conține în special polizaharide) în mediile lichide. Însă temperatura de topire a gelantinei e joasă (24—27°C), pe cînd a agar-agarului e de 100°C și el se gelifică la temperatura de 40—45°C. În cazul dezvoltării în medii lichide culturile microorganismelor formează suspensii, precipitat sau peliculă, iar în cele solide — colonii.

Mediile nutritive agarizate se întrebuințează pe larg în practica microbiologică. Ele sînt folosite în scopul studierii caracterului de creștere și clasificării microorganismelor, evidenței cantitative a microorganismelor; eliminării microorganismelor selecționate la analiza microbiologică a aerului, apei, solului etc., transformării microorganismelor la distanță (cultura levurilor se transportă la întreprinderi pe must agarizat); păstrării îndelungate a culturilor. Mediile nutritive solide, spre deosebire de cele lichide, mai au o prioritate, și anume infectarea culturii pe suprafața lor e observată imediat, deoarece cultura străină se dezvoltă de sine stătător într-o colonie ușor vizibilă, pe cînd în mediile lichide în majoritatea cazurilor rămîne neobservată.

M e d i i l e p u l v e r u l e n t e, spre exemplu tărîța, se întrebuințează la cultivarea unor microorganisme în producerea substanțelor biologice active (preparatele fermentative).

Mediile nutritive se pregătesc conform unor rețete speciale.

§ 2. Culturile selecționate ale microorganismelor și căpătarea lor

În condiții normale de trai microorganismele formează comunități, numite b i o c e n o z e. Studierea proprietăților morfologice și fiziologice a uneia sau altei specii de microorganisme e posibilă doar

în cazul separării ei de alte specii. În acest scop se efectuează selecționarea microorganismelor.

C u l t u r ă s e l e c ț i o n a t ă a microorganismelor se numește cultura reprezentată de descendența vegetativă a unei celule. Căpătarea culturilor selecționate în mod natural practic e imposibilă, de aceea ele se capătă în mod artificial. În unele cazuri inițial se separă o singură celulă (prin una din metodele răspîndite), apoi i se creează condiții favorabile pentru înmulțire.

De regulă, înainte de selecționarea culturii din produsul alimentar sau din substratul natural (apă, sol), în care se află microorganismul dat în cantități mici, se separă c u l t u r a d e a c u m u l a r e în condiții elective.

Procedeul introducerii celulelor microorganismului sau a materialului pentru studiere (probe de sol, apă, produse alimentare) în mediul nutritiv steril pentru a căpăta culturile selecționate sau de acumulare se numește î n s ă m î n ț a r e. Transpunerea celulelor crescute deja de pe un mediu pe altul (steril) se numește r e î n s ă m î n ț a r e. Culturile de acumulare constau în special din celulele microorganismului unei specii. Condițiile elective sînt acelea care contribuie la dezvoltarea unei culturi eliminate și care limitează dezvoltarea microorganismelor ce o însoțesc. Condițiile elective pot fi create prin intermediul folosirii mediilor selective. Spre exemplu, pentru bacteriile acetice ca mediu electiv poate servi berea, în care se adaugă 2—4% de alcool etilic.

Culturile de acumulare a organismelor autotrofe pot fi căpătate în mediile, în care unica sursă a carbonului este bioxidul de carbon. Lipsa compușilor organici ai carbonului din mediu reține dezvoltarea heterotrofilor. În afară de mediile elective condiții elective pot fi, spre exemplu, temperatura ridicată pentru formele termostabile, aciditatea sporită pentru cele acidostabile etc.

În condiții elective în complexul microbial are loc, în special, acumularea culturii eliminate, iar microorganismele, care o însoțesc, nu se vor dezvolta.

După căpătarea culturii de acumulare urmează eliminarea culturii selecționate. Metoda de bază a eliminării culturilor selecționate pînă în prezent rămîne cea propusă de către Koch. Pentru aceasta se însămînțează mediul solid cu suspensie a culturii de acumulare diluată cu scopul de a căpăta din fiecare celulă cîte o colonie separată. Colonia constă, de regulă, din celule formate din una și aceeași celulă, și deci e cultură selecționată.

De obicei microorganismele se dezvoltă la temperatură constantă în dulapuri speciale, numite t e r m o s t a t e, sau în camere termostatice. Temperatura constantă în ele e menținută cu ajutorul termoreglatoarelor speciale.

Cultivarea la o temperatură anumită se numește i n c u b a ț i e sau incubare.

Culturile selecționate sînt păstrate în eprubete pe medii solide. În acest caz e necesară reînsămînțarea frecventă pe mediu nutritiv proaspăt. Altă metodă de păstrare a culturilor selecționate este

păstrarea lor pe mediu nutritiv sub un strat de ulei de vaselină sau în stare liofilizată. Culturile liofilizate se capătă prin metoda de uscare liofilă în vacuum a celulelor microbiale congelate.

În industria alimentară sînt întrebuințate culturile selecționate de levuri, bacterii lactice, acetice etc. cu capacități de însemnătate industrială ce asigură căpătarea unei producții înalt calitative. În prezent sînt folosite pe larg culturile selecționate duble, care constau din două specii de microorganisme.

Munca de căpătare și întreținere a microorganismelor industriale selecționate se efectuează în laboratoarele de cercetări științifice. Acolo ele sînt separate din diferite substraturi, studiate și cele mai productive, bune pentru producție, se păstrează în colecția muzeului culturilor selecționate. Culturile selecționate sînt expediate la întreprinderi de către instituțiile de cercetări științifice de ramură. În laboratorul întreprinderii microbiologul pregătește cultura pentru ciclul de producție, controlînd puritatea biologică a ei și activitatea. Cultivarea culturilor selecționate se efectuează prin însămînțarea microorganismelor din cultura colecționată în mediu nutritiv steril și include cîteva reînsămînțări consecutive în volume treptat crescînde de mediu nutritiv.

Procesul cultivării include două stadii: *de laborator* (cultivarea culturii în laboratorul microbiologic) și *de producere* (cultivarea în secția culturii selecționate). După cultivarea de producere se capătă o cantitate de *culturi selecționate tehnice* suficientă pentru însămînțarea recipientelor de producere. În diferite ramuri de producție culturile selecționate tehnice poartă denumiri diferite: cultură seminceră, cultură pentru însămînțare, cultură uterină etc. Fiecare ramură de producție își are schemele sale de cultivare a culturilor selecționate.

În procesul lucrului cu culturile selecționate e necesară respectarea *sterilității*, adică excluderea impurificării cu microorganisme străine dezvoltării lor. Există diferite metode de sterilizare.

§ 3. Metodele de cultivare a microorganismelor

Cultivarea poate fi efectuată prin diferite metode: în profunzime sau la suprafață; periodic sau continuu; în condiții aerobe sau anaerobe. Aici vom analiza metodele folosite în tehnologia produselor alimentare și microbiologice cu folosirea microorganismelor aerobe.

Metoda de cultivare se alege în dependență de scopul final al cultivării: acumularea masei biologice, căpătarea unui anumit produs al activității vitale a microorganismelor (metabolitului).

Cultivarea la suprafață. Metoda de cultivare la suprafață constă în creșterea microorganismelor aerobe la suprafața mediilor nutritive lichide și pulverulente. În acest caz microorganismele folosesc oxigenul nemijlocit din aer. În legătură cu acest fapt în timpul cultivării la suprafață se mărește suprafața de contact a mediului cu aerul. În urma cultivării la suprafața mediilor lichide microorganismele cresc sub formă de peliculă (de exemplu, la producerea aci-

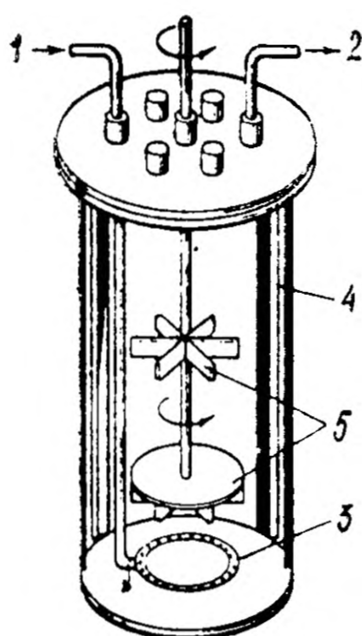


Fig. 12. Schema fermentatorului pentru cultivarea [illegible] a microorganismelor aerobe:
1 — intrarea aerului; 2 — ieşirea aerului; 3 — barbotorul; 4 — abatajul; 5 — amestecătorul.

dului citric). Pe mediile nutritive pulverulente în urma cultivării la suprafaţă sînt obţinute preparatele fermentative.

Cultivarea în profunzime. Această metodă de cultivare se efectuează pe medii lichide, în care microorganismele se dezvoltă în toată grosimea mediului. Îmbinarea mediului nutritiv şi a microorganismelor, ce se dezvoltă în ele, poartă denumirea de l i c h i d c u l t u r a l.

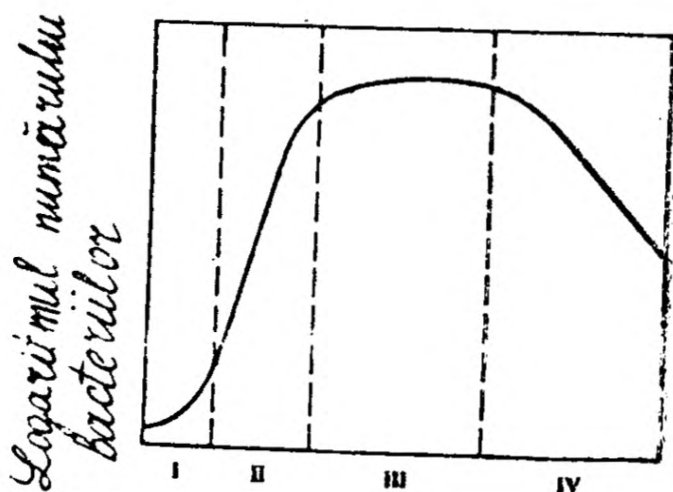
Întrucît microorganismele pot utiliza numai oxigenuul dizolvat în apă, iar solubilitatea oxigenului în apă e mică, pentru asigurarea creşterii microorganismelor aerobe e necesară aprovizionarea lor permanentă cu oxigen. Aportul oxigenului în adîncul mediului lichid e numit a e r a r e. Aerarea se înfăptuieşte prin suflarea aerului steril prin lichidul cultural. Cultivarea în profunzime e folosită pe larg la prepararea biomasei microorganismelor (drojdiile de pîine presate, drojdiile furajere) şi a diferitelor produse ale activităţii vitale a microorganismelor (acizilor organici, enzimelor, antibioticelor, aminoacizilor).

Cultivarea în profunzime a acestor substanţe în producere se realizează cu ajutorul f e r m e n t a t o a r e l o r (fig. 12), volumul cărora poate atinge 100 m^3 (100 000 l). În fermentatoarele moderne trecerea aerului se reglează automat. Aerul se sterilizează prin cărbune de lemn activat, vată de sticlă, îmbibată cu antiseptic, sau prin materiale filtrante polimere. Pentru dispersarea mai puternică a aerului şi fracţionarea lui în bule el e trecut prin plăci cu orificii mici — b a r b o t o a r e, situate nemijlocit în fermentator. Aerarea forţată în fermentator de obicei se îmbină cu mediul cu ajutorul amestecătoarelor, care se rotesc cu o frecvenţă de la zeci pînă la mii de rotaţii pe minut. Aceasta asigură contactul maximal al celulelor cu oxigenul aerului, cu substanţele nutritive, se măreşte simţitor suprafaţa de contact a celulelor şi asigură menţinerea vitezei maxime de evacuare a metaboliţilor din celule.

Cultivarea în profunzime nu necesită suprafeţe mari şi utilaj

Fig. 13. Curba de creştere a culturii bacteriale:

I — lag-faza; II — faza logaritmică; III — faza staţionară; IV — faza de atrofiere.



voluminos; volumul fermentatoarelor poate fi sporit mărind înălţimea aparatului; deservirea lui e simplă, poate fi şi automatizat, iar separarea produsului final din lichidul cultural e foarte comodă.

Cultivarea în profunzime poate fi periodică şi continuă. La cultivarea periodică volumul mediului nutritiv se însămînţează cu cultură selecţionată şi creşterea are loc în condiţii optimale o anumită perioadă de timp — pînă la acumularea cantităţii necesare a produsului final. Deoarece cultivarea se face în mediu nutritiv, ce nu se reînnoieşte (în condiţii stabile), celulele se află permanent în condiţii schimbătoare. La început ele au un surplus de substanţe nutritive, apoi treptat începe insuficienţa de hrană şi otrăvirea cu produse ale metabolismului. In legătură cu aceasta procesul dezvoltării culturii trece patru faze de creştere şi înmulţire, în timpul cărora se schimbă dimensiunile celulelor, viteza de înmulţire, proprietăţile morfologice şi fiziologice (fig. 13).

Prima fază — lag-fază sau faza de reţinere a creşterii are loc imediat după introducerea materialului de însămînţare în mediul nutritiv. In această fază microorganismele nu se înmulţesc, ci se adaptează la mediu, sporeşte cantitatea acizilor nucleici, se măresc dimensiunile. Acest stadiu e o pregătire a celulei către sinteza intensă a proteinei de mai departe, adică către creştere şi înmulţire.

A doua fază — de creştere logaritmică (exponenţială) — are o viteză mare de înmulţire a celulelor, deoarece mediul conţine multe substanţe nutritive şi puţine produse dăunătoare ale metabolismului. Timpul necesar pentru creşterea numărului celulelor de două ori este numit durată de generaţie. In condiţii favorabile celulele bacteriilor se divizează la fiecare 20—30 min, numărul lor sporind în progresie geometrică (1, 2, 4, 8, 16).

In faza a treia — staţionară (de maturitate), înmulţirea microorganismelor încetinează, viteza de înmulţire şi atrofiere se egalează. Ca urmare numărul celulelor rămîne constant.

In faza a patra — de declin, începe scăderea numărului de celule vii din cauza pieirii multor celule şi a autolizei (autodigestici) lor.

Cultivarea periodică se practică în multe ramuri de producere, care se bazează pe activitatea vitală a microorganismelor. Însă la efectuarea ei se cheltuie irațional mult timp pentru cele patru faze de dezvoltare a culturilor, ținînd cont de faptul că perioada cea mai activă — faza exponențială — ocupă cea mai mică parte din ciclul de producere.

În ultimele decenii tot mai largă răspîndire capătă metoda continuă de cultivare a microorganismelor, cînd cultura se află într-un aparat special, prin care permanent curge mediu nutritiv proaspăt și cu aceeași viteză se înlătură lichidul cultural. Materialul pentru însămînțare se crește pînă la faza exponențială și apoi se introduce în mediul nutritiv. Durata perioadei de creștere exponențială depinde de cantitatea substanțelor nutritive din mediu și de cantitatea produselor dăunătoare eliminate de celule în urma metabolismului.

La o viteză mare a afluxului mediul nutritiv se renovează repede, substanțele nutritive nu reușesc să se epuizeze, iar produsele metabolismului să se acumuleze și cultura se menține în stare activă fără a ajunge la stadiul de declin. Cu toate că procesul tehnologic e complicat prin aparatajul său, metoda neîntreruptă de cultivare are multe avantaje față de cea periodică.

În ultimii ani se elaborează activ și se folosește metoda continuă de cultivare a celulelor microorganismelor în stare imobilizată (fixată) pe pelicule, granule, fibre de materiale polimere sintetice special alese. Celulele imobilizate ale microorganismelor funcționează de repetate ori și un timp îndelungat își păstrează activitatea biochimică înaltă.

Cultivarea neîntreruptă se folosește pe larg în industria alimentară, microbiologică și are o perspectivă vădită. Ea creează posibilitatea de a menține automat condițiile optimale date datorită cărui fapt este asigurat caracterul standardizat al produsului gata cu cheltuieli minimale.

CAPITOLUL 4

ECOLOGIA MICROORGANISMELOR

Ecologia este știința ce studiază relațiile dintre organismele vii și mediul ambiant. Mediul ambiant e acea parte a naturii, care înconjoară organismul viu și cu care el interacționează nemijlocit.

Conform ideilor contemporane, Pămîntul e unica planetă din sistemul solar, unde este viață și biosferă. Biosfera e o parte a planetei noastre, care include în sine un ansamblu de ființe vii și în care este posibilă viața încontinuu. Biosfera se împarte în trei medii: litosfera, hidrosfera și troposfera.

Litosfera este învelișul tare de deasupra scoarței pămîntești, adică suprafața continentelor, hidrosfera — învelișul acvatic al pămîntului și troposfera — straturile de jos ale învelișului de aer al Pămîntului (atmosferă).

În fiecare din aceste medii trăiesc diferite ființe. Partea covîrșitoare a biosferei le revine microorganismelor.

În condiții strict determinate ale mediului ambiant se formează biocenozele — asociații de organisme ce conviețuiesc și sînt legate reciproc între ele (microorganismele, plantele, animalele), ocupă un anumit teritoriu și sînt adaptate atît la mediul ambiant, cît și reciproc.

Locul de viețuire al biocenozei se numește biotop. Acesta poate fi solul, apa, aerul, plantele, animalele cu sînge rece și cele cu sînge cald, cît și organismul omului. Biotopul și biocenoza în ansamblu alcătuiesc ecosistemul. Ecosistemul constă din elemente vii și moarte. Spre exemplu, într-un bazin de apă elementele moarte sînt apa, oxigenul dizolvat, CO_2, sărurile minerale, compușii organici etc., iar cele vii sînt locuitorii lui (biocenoza). Între părțile vii și moarte ale oricărui ecosistem are loc un circuit de substanțe stabil, în care rolul principal îi revine microflorei biotopului dat.

Numărul și componența microorganismelor în diferite biotopuri depind de condițiile mediului ambiant (prezența substanțelor nutritive, temperatură, umiditate, cantitatea oxigenului, iluminare etc.).

§ 1. Rolul microorganismelor în circulația substanțelor în biosferă

Din componența organismelor vii fac parte 60 de elemente chimice din cele 105 cunoscute. Datorită activității vitale a organismelor biocenozei în biosferă are loc circuitul biogen al substanțelor, care include circuitul diferitelor elemente (carbonului, azotului, fosforului, fierului etc.).

Deși au dimensiuni mici, rolul microorganismelor în circuitul substanțelor e foarte mare datorită efectivului său numeric (masa lumii microorganismelor depășește de 25 de ori masa lumii animale) și răspîndirii. Cauzele răspîndirii largi a microorganismelor sînt:

viteza mare de reproducere — în condiții favorabile divizarea celulei durează 20—40 min.;

dimensiunile mici ale celulelor, ce sînt ușor duse de curenții de aer;

adaptabilitatea și rezistența înaltă la condițiile mediului ambiant (căldură, frig, insuficiența de umiditate etc.). Ele pot trăi și se reproduce acolo, unde alte viețăți nu pot exista;

diversitatea surselor de alimentare și a modurilor de căpătare a energiei. Microorganismele sînt omnivore și pot consuma toți compușii naturali și artificiali.

În circuitul substanțelor microorganismele joacă rolul de producători și de distrugători ai substanțelor organice. O importanță deosebit de mare o au microorganismele în circuitul carbonului, care alcătuiește 50% din substanța vie. Ca sursă a carbonului pentru sinteza substanțelor organice servește dioxidul

de carbon, din care plantele, bacteriile autotrofe şi chemoautotrofe îşi formează masa. Aceste organisme sînt producători ai substanţei organice pe planetă. Numai plantele consumă anual pînă la 60 bilioane t de CO_2. Dacă rezervele de CO_2 din atmosferă nu s-ar completa, atunci viaţa pe Pămînt treptat ar dispărea, fiindcă rezervele acestui gaz din atmosferă ar fi epuizate de către plante timp de 30—40 de ani.

Carbonul asimilat de plante şi bacterii autotrofe (după moartea acestor) se reîntoarce din nou în atmosferă sub formă de CO_2 datorită microorganismelor. Biocenozele microbiale efectuează distrucţia chimică a animalelor moarte, plantelor, celulelor microorganismelor. Ca urmare a activităţii lor cele mai complicate substanţe organice (proteine, glucide, grăsimi) se transformă în substanţe minerale simple (nitraţi, amoniac, sulfaţi). Ele se dizolvă în apă şi sînt asimilate de plante, care servesc ca hrană pentru animalele erbivore. În urma descompunerii substanţelor organice se elimină o cantitate mare de CO_2. 95% din cantitatea totală a CO_2 format de toate vietăţile revine activităţii microorganismelor.

Importanţa activităţii de mineralizare a microorganismelor este mare. Fără ele, după părerea lui L. Pasteur, pămîntul ar fi supraîncărcat de cadavre, iar cele mai bune păşuni şi pădurile tropicale s-ar transforma în pustiuri nefertile.

Microflora solului. Stratul de sol în litosferă s-a format mii de ani sub acţiunea factorilor fizici, chimici şi mai ales ai celor biologici. Solul e ecosistemul de bază şi este locul de trai al multor animale, plante şi mai ales microorganisme. El conţine cantitatea necesară de substanţe nutritive şi umezeală pentru viaţa lor.

Componenţa cantitativă şi specifică a microflorei solului depinde de tipul de sol, condiţiile climaterice, caracterul plantelor etc. Microorganismele se dezvoltă intens în solul îngrăşat. Spre exemplu, 1 g de sol fertil conţine miliarde de microorganisme diverse (bacterii sporogene şi asporogene, actinomicete, ciuperci miceliale). Microflora podzolului înţelinit e mult mai săracă. Microorganismele vieţuiesc în nisipurile pustiurilor şi în gheţarii Arcticei şi Antarctidei. În stratul superficial al solului cu grosimea de cîţiva milimetri microorganisme sînt puţine din cauza acţiunii luminii solare şi a uscării solului. Următorul strat cu grosimea de 5—10 cm e cel mai populat—1 cm^3 conţine aproximativ 100 mii de microorganisme. Pe măsura adîncirii în strat numărul microorganismelor scade (dar şi la o adîncime de 5 m au fost găsite microorganisme), schimbîndu-se conţinutul calitativ al microflorei. Straturile superficiale ale solului conţin multe substanţe organice, ce nimeresc din afară, ele au o aerare bună şi de aceea predomină microorganismele aerobe heterotrofe. La o adîncime mai mare sînt mai puţine substanţe organice şi oxigen, de aceea acolo predomină bacteriile anaerobe. În sol predomină bacteriile de putrefacţie, butirice, cele de nitrificare şi de denitrificare, fixatoare de azot, actinomicetele şi ciupercile miceliale.

Fertilitatea solului depinde de activitatea vitală a microorga-

nismelor şi de gradul de participare a lor la circuitul substanţelor în sol. Însă substanţele organice din reziduurile animale şi vegetale sînt mineralizate doar parţial, restul se transformă în substanţe compuse, care formează h u m u s u l din sol. El e destul de rezistent la acţiunea microorganismelor şi slab predispus mineralizării. Acumularea humusului în sol contribuie la sporirea fertilităţii lui. Cu cît mai mult humus se află în sol, cu atît mai energic decurg procesele microbiologice, circuitul substanţelor, ceea ce joacă un rol important la acumularea substanţelor nutritive pentru plante.

Pe lîngă saprofiţi în sol se mai întîlnesc şi bacterii patologice — excitanţi ai tetanosului, botulismului, cangrenei gazoase, antraxului şi ai diferitelor infecţii intestinale. De aceea impurificarea materiei prime şi a produselor gata pentru realizare cu sol poate duce nu numai la pierderea substanţelor nutritive de preţ şi la reducerea calităţii în urma alterării microbiale, ci şi la diferite boli infecţioase şi intoxicaţii alimentare.

Microflora apei. Hidrosfera include apele subterane, apele de suprafaţă şi apele Oceanului Mondial (mulţimea de mări şi oceane), ocupînd 3/4 din suprafaţa planetei. Ca şi solul apa este un biotop natural pentru microorganisme, unde are loc reproducerea activă a lor şi participarea la procesele circuitului substanţelor.

Cantitatea microorganismelor în apă depinde de provenienţa ei. În industria alimentară e folosită de obicei apa dulce, de aceea vom vorbi numai despre apele naturale dulci.

A p e l e s u b t e r a n e. Aceste ape (de izvor, freatice, arteziene) conţin diferite cantităţi de microorganisme. Apele de izvor sînt sărace în microbi din cauza absorbţiei lor de către particulele mici ale solului în timpul trecerii apei prin pămînt. Apele freatice, mai ales cele din fîntînile nu prea adînci, conţin, de regulă, un număr mare de microorganisme, inclusiv şi patogene, care primăvara, împreună cu aerul, praful şi în urma ploilor nimeresc în ea la infiltrarea apelor de la suprafaţă. Apele arteziene, spre deosebire de cele freatice, se află la adîncimi mari şi sînt mai curate. Apa arteziană nu conţine bacterii. În ea pot fi găsite unităţi de microorganisme, care nimeresc de pe suprafaţa conductelor.

A p e l e d e s u p r a f a ţ ă (r e z e r v o a r e l e c o n t i n e n t a l e) sînt cele din bazinele deschise: rîuri, lacuri, bazinele de acumulare, iazurile. Microflora lor e diversă şi numeroasă, ceea ce depinde mai ales de cantitatea substanţelor nutritive. Cu cît apa conţine mai multe deşeuri organice, cu atît numărul microorganismelor din ea e mai mare. Asupra componenţei calitative şi cantitative a microflorei apei influenţează gradul de aerare, temperatura, componenţa chimică a apei, limpezimea ei (de care depinde adîncimea pătrunderii luminii solare), vecinătatea localităţilor şi a întreprinderilor industriale (de unde în bazine nimeresc apele de scurgere), anotimpul anului etc.

Microflora apelor de suprafaţă constă din microorganismele proprii lor şi din cele ce nimeresc din sol, aer, cît şi împreună cu apele de scurgere industriale şi cele menajere.

Spre exemplu, apele rîurilor ce curg mai sus de orașe întotdeauna au o microfloră mai săracă decît apele rîurilor ce curg prin orașe sau mai jos de ele, deoarece în acestea din urmă nimeresc multe ape de scurgere, iar împreună cu ele și multe microorganisme patogene.

Cea mai mare parte a microorganismelor nimeresc în bazine din sol. Spre exemplu, în bazinele cu apă stătătoare (lacuri, iazuri) numărul bacteriilor e mai mare în apa de lîngă mal.

Numărul microorganismelor crește odată cu topirea zăpezii și în urma inundațiilor. Multe microorganisme conține apa de la suprafață. Ele nimeresc în ea din aer, se așază împreună cu praful și în urma precipitațiilor atmosferice.

Cantitatea bacteriilor crește brusc pe timp ploios și scade simțitor pe timp însorit. Multe microorganisme conține apa de la fundul bazinului, mai ales în stratul de la suprafața mîlului, unde se sedimentează deșeurile vegetale și animale, bogate în substanțe organice. Aici au loc procese microbiologice intensive, ce asigură circulația substanțelor în bazine.

Microflora aerului. Microorganisme se întîlesc și în troposferă (la înălțimea de 9—11 km). Cea mai mare cantitate se află în stratul de la suprafața pămîntului (cu grosimea de aproximativ 1 m). Microorganismele nimeresc și în stratosferă la înălțimea de 20 km și mai mult împreună cu curenții de aer.

Aerul atmosferic este un biotop puțin prielnic pentru microorganisme din cauza lipsei de substanțe nutritive și apă în formă de picături și a acțiunii razelor ultraviolete. Dacă în sol și apă microorganismele nu numai se păstrează, ci și se reproduc activ, apoi în aer ele își pot păstra temporar viabilitatea. Datorită acestui fapt microflora aerului comparativ e puțin numeroasă. Microbii nimeresc în aer în special din sol, de pe plante și animale, sînt aduse de vînt împreună cu praful, în urma precipitațiilor atmosferice (mai ales pe ceață). Un rol important aici îl joacă și insectele.

Un m^3 de aer conține de la cîteva unități pînă la multe zeci de mii de microorganisme — în dependență de gradul de curățenie a aerului: cu cît el e mai curat, cu atît mai puține microorganisme conține. Aerul de deasupra orașelor mari conține un număr sporit de microorganisme, numărul lor scade pe măsura îndepărtării de la suprafața pămîntului.

În regiunile arctice, în munți, pe mare (departe de mal) aerul e curat. Aerul din păduri (în special de pin), conține puține microorganisme, deoarece asupra lor acționează substanțele volatile (fitoncidele), eliminate de copaci. Aerul de deasupra cîmpiilor îngrășate conține multe microorganisme; în una și aceeași localitate pînă la ploaie sînt mai multe microorganisme, decît după ploaie; iarna în aer sînt mai puține microorganisme decît vara.

Microflora aerului este alcătuită în fond din diferite feluri de bacterii sporogene, dintre care multe sînt pigmentate. Pigmenții joacă un rol de protecție pentru bacterii împotriva razelor ultraviolete. Aerul conține, de regulă, și spori ai ciupercilor miceliare, și

ai levurilor. Bacteriile patogene practic lipsesc în aerul liber şi pot fi întîlnite numai în aerul încăperilor închise.

Apa potabilă. Apa din apeduct poate să conţină un număr diferit de microorganisme, în dependenţă de izvorul de alimentare. Dacă apa e arteziană, ea conţine puţine bacterii, dacă e din bazine deschise (rîuri sau lacuri), ea trebuie să fie curăţată prin filtrare şi neutralizată prin clorare. Clorarea apei este una din cele mai eficace metode de neutralizare a apei. Cea mai bună substanţă pentru clorare este varul, care conţine clor activ (1 mg de clor activ la 1 l de apă).

Conform normelor în vigoare, apa care conţine pînă la 100 de bacterii în 1 ml este bună de băut, de la 100 pînă la 150— este suspectă, iar o cantitate mai mare — e murdară, inutilizabilă.

Pentru evaluarea sanitaro-igienică a apei e necesar a aprecia următorii indici:

numărul sumar de microorganisme (numărul microbial), adică numărul de colonii, ce au crescut pe geloza peptonată în ceaşca Petri în urma însămînţării a 1 ml de apă nedizolvată la temperatura de 37°C în decurs de 24 de ore;

prezenţa colibacililor Escherichia coli* în apă şi gradul de însămînţare cu aceste microorganisme;

coli-titru (cel mai mic volum de apă, în care e prezent un singur colibacil) şi coli-indiciu (numărul de colibacili care se află într-un litru de apă).

Conform normelor primite, pentru apa potabilă numărul microbial nu trebuie să depăşească 100 de celule bacteriene la 1 ml, coli-titrul nu trebuie să fie mai mic de 300, coli-indiciul — să nu fie mai mare de 300, iar coli-indiciul — să nu fie mai mare de 3.

Purificarea apelor de scurgere. Apele de scurgere industriale şi cele menajere pot polua apa din bazine, înrăutăţind calităţile ei fizico-chimice şi agravînd starea sanitară a populaţiei. Conform legilor în vigoare, toate apele de scurgere trebuie să fie curăţate înainte de a nimeri în bazinele de apă deschise.

Curăţirea apei se face prin diferite metode (fizice, chimice şi biochimice). După curăţirea mecanică — filtrare, strecurare, sedimentare — apele de scurgere se curăţă prin metoda biochimică, pe cîmpurile de infiltraţie, pe cîmpurile de irigaţie, prin biofiltre şi aerotancuri.

Cîmpuri de infiltraţie sînt numite cîmpurile pregătite special şi prevăzute pentru apele de scurgere. Prelingîndu-se prin straturile solului, apa se curăţă de substanţele organice şi de microorganisme.

Cîmpurile de irigaţie se folosesc pentru creşterea culturilor de cîmp, leguminoase şi de grădină. Aceste cîmpuri se împart în parcele, care «lucrează» pe schimburi: o parcelă e destinată pentru

---

* Denumirea Escherihia provine de la numele savantului Escherih, care a descoperit colibacilul.

filtrarea și acapararea substanțelor nutritive, alta, paralel, e destinată pentru creșterea culturilor agricole.

Cîmpurile de filtrație și cele de irigație n-au găsit o întrebuințare largă din cauza productivității de filtrare joase.

Cele mai răspîndite mijloace biologice de curățire a apei sînt filtrele biologice și aerotancurile.

Filtrele biologice (biofiltrele) sînt niște rezervoare de beton armat umplute cu material de filtrare (prundiș sau pietriș al rocilor de munte tari), aranjat pe fundul găurit al rezervorului. Apa de scurgere, trecînd prin stratul de material filtrant, se curăță datorită microorganismelor ce se află pe suprafața pietricelelor și formează o peliculă biologică.

Aerotancurile sînt niște rezervoare lungi de beton armat (lungimea 30—100 m și mai bine, lățimea—3—5 m, adîncimea—3—5 m). În aerotancuri permanente se pompează aer pentru existența normală a microorganismelor. Nămolul activ din aerotanc și aerarea duc la oxidarea energică a substanțelor organice. Nămolul activ e alcătuit din îngrămădiri de bacterii și se aseamănă cu fulgii hidroxidului de fier.

Datorită inspirării aerului particulele nămolului activ sînt în permanență în suspensie, ceea ce în prezența oxigenului grăbește curățirea lichidului de scurgere.

Substanțele organice absorbite pe suprafața particulelor nămolului sînt supuse mineralizării (amonificarea și nitrificarea). În apă curățită prin această metodă numărul bacteriilor scade brusc și mor microorganismele patogene.

Nămolul activ, alcătuit din microorganisme și bogat în proteine, grăsimi, fosfor, vitamine, poate fi folosit ca adaos la nutrețurile pentru animalele domestice.

§ 2. Factorii ecologici și microorganismele

Activitatea vitală a microorganismelor e strîns legată de mediul ambiant. Cu cît condițiile mediului ambiant sînt mai favorabile pentru microorganisme, cu atît ele se dezvoltă mai intensiv și duc o activitate vitală mai mare.

Proprietățile mediului ambiant, care acționează asupra microorganismelor, se numesc *factori ecologici*. Unii din ei sînt necesari celulei, iar alții îi sînt dăunători — pot să-i frîneze creșterea și reproducerea sau îi pot provoca chiar și moartea. Sub influența factorilor ecologici e posibilă mutageneza (schimbarea proprietăților ereditare a celulei).

Factorii ecologici sînt foarte diverși și nestabili, de aceea microorganismele sînt nevoite în permanență să se *adapteze* la ei. Microorganismele posedă o adaptabilitate extraordinară față de condițiile nefavorabile, transformîndu-se în spori.

Acțiunea intensivă și îndelungată a unor factori nefavorabili poate duce la *moartea* celulei. Moartea microorganismelor înseamnă pierderea ireversibilă a capacităților de creștere și reprodu-

cere. Unele traume ale celulelor, ce pot provoca moartea lor, în anumite condiţii sînt lichidate, în urma cărui fapt ele îşi recapătă capacitatea de creştere şi reproducere. Acest fenomen se numeşte reactivare a microorganismelor şi are loc în urma acţiunii energiei radiante şi a temperaturii înalte.

Factorii ecologici sînt de origine diferită şi au acţiune specifică. Ei se împart în abiotici (factorii naturii moarte), biotici (factorii naturii vii) şi antropogeni (toate formele de activitate a omului în societate, care duc la schimbări ale naturii ca mediu ambiant).

Factorii abiotici sînt condiţiile fizico-chimice ale mediului de trai. Şi anume — temperatura, umiditatea mediului, presiunea osmotică, diversitatea energiei radiante, concentraţia ionilor de hidrogen, oxigenul.

Procarioţii (bacteriile) pot exista într-un diapazon mult mai larg al condiţiilor mediului de trai decît eucarioţii (ciupercile miceliale şi drojdiile).

Influenţa temperaturii. Temperatura este unul din factorii cei mai importanţi care influenţează asupra dezvoltării microorganismelor. Ele se pot dezvolta într-un anumit diapazon de temperaturi, care are trei puncte cardinale: minimal — temperatura, mai jos de care creşterea n-are loc; maximal — temperatura, mai sus de care creşterea încetează, şi temperatura optimă, la care creşterea şi activitatea microorganismelor sînt cele mai intensive. După comportarea la temperatură microorganismele se împart în trei grupe: psihrofili, mezofili şi termofili.

Psihrofilii sînt microorganisme iubitoare de frig. Temperatura optimă de dezvoltare a lor e de la 10 pînă la 15°C, maximă — aproximativ 30°C şi minimă — de la minus 10 pînă la 0°C. Locul de trai al psihrofililor sînt izvoarele reci, mările de nord, solul, cît şi microorganismele, care se dezvoltă în congelatoare, pe produsele răcite (congelate) şi care pot produce alterarea lor. La ei se referă şi multe bacterii maritime luminiscente.

Mezofilii preferă temperaturile medii. Temperatura lor optimă de dezvoltare e de 25—40°C, maximă—45—50°C şi minimă—5—10°C. Mezofilii sînt cel mai răspîndit grup de microorganisme în natură. Ei trăiesc în apă, aer, sol şi în organismele vii. Din ei fac parte reprezentanţii levurilor, ciupercilor miceliale, bacteriilor lactice, bacteriilor intestinale (stafilococii, streptococii fecali) etc. Provocatorii alterărilor produselor alimentare, intoxicaţiilor şi ai bolilor în majoritate sînt mezofili.

Termofilii sînt microorganisme iubitoare de căldură. Temperatura lor optimă de dezvoltare e de 50—60°C, maximă — 70—80°C, minimă — aproape de 30°C. Termofilii sînt răspîndiţi larg în natură. Ei pot vieţui în izvoarele fierbinţi, în solul şi bazinele de apă din ţările calde, în nisipurile pustiurilor, în intestinele omului şi animalelor, deoarece majoritatea termofililor formează spori rezistenţi.

De activitatea termofililor e legat fenomenul de termogeneză (autoîncălzire) a îngrămădirilor mari de substanţe organice

(gunoi, băligar, turbă, fîn, siloz, cereale, bumbac, crupe, făină etc.). Termofilii se întîlnesc în produsele ce au trecut deja prelucrarea termică (în industria de conserve, zahăr și în alte industrii). Din grupul de termofili și psihrofili fac parte în fond bacteriile.

Microorganismele suportă mai greu temperaturile înalte decît cele joase. Ridicarea temperaturii la un nivel mai înalt de cel maxim provoacă moartea celulei. In acest caz un rol mare îl joacă nu numai nivelul temperaturii, durata acțiunii ei și specia microorganismului, ci și componența chimică a substratului (mediului nutritiv, pH-ul etc.).

Ca rezultat al încălzirii substanțelor umede pînă la 60—70°C bacteriile nesporogene mor peste 15—30 min, pînă la 90—100°C— peste 0,5—3 min. Levurile și ciupercile miceliale mor la 50—60°C. Cei mai rezistenți la încălzire sînt termofilii, care au o termostabilitate sporită.

Termostabilitatea este capacitatea microorganismelor de a rezista un timp îndelungat la temperaturi mai înalte decît maximumul dezvoltării lor. Termostabilitatea e strîns legată de capacitatea microorganismelor de a forma spori.

Cei mai termostabili sînt sporii bacteriilor. In mediu umed la temperatura de 120—130°C ei mor peste 20—30 min., iar în mediu uscat la temperatura de 160—170°C — peste 1—2 ore. Termostabilitatea sporilor diferitelor bacterii diferă. Cei mai stabili sînt sporii bacteriilor termofile (*Bacillus stearothermophilus*).

Timpul necesar pentru mortificarea sporilor unor microorganisme în urma încălzirii lor pînă la 100°C e dat mai jos (în minute):

Bacillus mycoides	3—10
Bacillus subtillis	120—180
Clostridium botulinum	300—360
Clostridum sporogenes	510—540
Bacillus stearothermophilus	460—720

Sporii multor levuri și ai ciupercilor miceliare în comparație cu sporii bacteriilor sînt mai puțin stabili la încălzire și mor destul de repede la temperatura de 65—80°C.

Anume capacitatea temperaturilor înalte de a influența asupra microorganismelor stă la baza diferitelor metode de combatere a lor în industria alimentară. Astfel de procese sînt fierberea, blanșarea, prăjirea, pasteurizarea și sterilizarea.

P a s t e u r i z a r e a sau sterilizarea parțială este procesul de nimicire a celulelor bacteriilor vegetale și formelor nesporogene prin încălzire pînă la 50—60°C timp de 15—30 min sau pînă la 70—80°C timp de 5—10 min. In procesul pasteurizării sporii bacteriilor și unele bacterii termofile nu mor. La pasteurizare se recurge în cazul păstrării laptelui, vinului, berii, icrelor de pește, sucurilor de fructe.

S t e r i l i z a r e a este procesul de nimicire totală a microorganismelor, inclusiv și a celor sporogene, sub acțiunea temperaturilor înalte. Sterilizarea poate fi umedă și uscată. Sterilizarea umedă se face cu ajutorul vaporilor încălziți la o presiune de 0,05—0,1 MPa

în aparate speciale numite **a u t o c l a v e** la temperatura de 112—120°C timp de 20—60 min., cea uscată — în dulapuri de uscare cu aer uscat fierbinte la temperatura de 160—170°C timp de 1,5—2 ore. Sterilizarea este folosită pe larg la producerea conservelor, în medicină și în laboratoarele microbiologice pentru pregătirea mediilor nutritive, sterilizarea vaselor și instrumentelor.

Acțiunea temperaturilor înalte. Mecanismul acțiunii distrugătoare a temperaturilor înalte e studiat parțial. Pe de o parte, se știe că la încălzire are loc denaturarea proteinelor. În urma acestui fenomen e imposibilă restabilirea proprietăților proteinelor citoplasmei, MCP, ribozomilor și ale altor structuri celulare; fermenții formați din proteine își pierd de asemenea activitatea ireversibil. Pe de altă parte, e dovedit că asupra temperaturii de denaturare a proteinelor influențează cantitatea apei din ele. Cu cît proteinele conțin mai puțină apă, cu atît e nevoie de o temperatură mai înaltă pentru denaturarea lor. Iată de ce celulele vegetale tinere, care conțin multă apă liberă, în urma încălzirii mor mai repede, decît cele bătrîne, parțial deshidratate. Termostabilitatea înaltă a sporilor de asemenea se datorește cantității mici de apă liberă din el, așa cum cea mai mare parte din spori e legată. Sporii sînt protejați și de membrana formată din cîteva straturi cu permeabilitate joasă. Ei mai conțin și acid dipicolinic, care formează săruri de calciu capabile de a spori rezistența față de condițiile nefavorabile ale mediului ambiant și temperaturile înalte.

Termofilii sînt mai termostabili decît mezofilii, deoarece conțin proteine și fermenți cu o rezistență mai înaltă față de temperatură și astfel viteza de sinteză a diferitelor structuri celulare depășește viteza distructivă a lor sub influența temperaturilor înalte.

Acțiunea temperaturilor joase. Microorganismele sînt comparativ mai rezistente față de temperaturile joase. Deși în urma acțiunii temperaturii mai joase de minimală reproducerea și activitatea biochimică a microorganismelor încetează, moartea celulelor deseori nu are loc — ele trec în stare anabioză («viață camuflată latentă»). Într-o astfel de stare multe microorganisme, mai ales sporii, pot exista timp îndelungat.

Odată cu ridicarea temperaturii sporii încep să crească, se transformă în celule vegetale, înmulțindu-se activ.

Microorganismele pier la temperaturi joase în cazul schimbării bruște a temperaturii (repetarea concomitentă a înghețului și dezghețului). Cauza pieirii microorganismelor sub acțiunea temperaturilor joase este perturbarea de metabolism ca consecință a inactivării fermenților și a încetinirii simțitoare a transformărilor chimice ale substanțelor în celulă. În afară de aceasta, apa îngheață, presiunea osmotică a mediului crește, prin urmare activitatea apei scade și duce de asemenea la perturbarea metabolismului.

Temperaturile joase se folosesc la păstrarea produselor ușor alterabile. Ele sînt păstrate în formă **r ă c i t ă** la temperatura de la 10°C pînă la minus 2°C sau în stare **c o n g e l a t ă** la temperatura de minus 12—13°C. Bacteriile de putrefacție și cele ce provoacă into-

xicaţii alimentare sînt mezofilii şi nu se pot dezvolta la temperatura de 4—5°C, iar cele patogene nu cresc chiar şi la 10°C. Proprietăţile naturale ale produselor răcite, spre deosebire de cele congelate, se păstrează mai bine, în schimb la suprafaţa lor e posibilă dezvoltarea lentă a microorganismelor psihrofile şi alterarea produselor. De aceea perioada păstrării produselor răcite e de scurtă durată. Camerele de congelare e necesar a le dezinfecta regulat, menţinînd în ele temperatura şi umiditatea aerului necesare.

La congelare sînt nimicite majoritatea microorganismelor, ce însămînţează produsul, iar în timpul păstrării de mai departe a produselor congelate treptat pier toate microorganismele. Cel mai funest efect o are congelarea lentă. Produsele congelate, spre deosebire de cele răcite, îşi păstrează timp mai îndelungat valoarea calitativă. În formă congelată se păstrează fructele, carnea, peştele etc.

Influenţa umidităţii. Asupra activităţii vitale a microorganismelor influenţează în mare măsură umiditatea mediului. Apa intră în componenţa celulelor lor (pînă la 85%), menţinînd presiunea de turgor în ele. În afară de aceasta multe substanţe nutritive pot pătrunde în celulă numai în stare dizolvată şi tot în stare dizolvată se elimină din celulă produsele de schimb. Toate reacţiile chimice ce au loc în celulă necesită apă. De aceea deshidratarea substratului (produsului) şi a celulelor microorganismelor frînează dezvoltarea lor, ele rămînînd pasive, cu toate că îşi păstrează viabilitatea. Odată cu sporirea umidităţii activitatea vitală a microorganismelor se restabileşte.

Microorganismele, în dependenţă de raportul lor faţă de umiditatea mediului, se împart în hidrofite (iubitoare de apă), mezofite (preferă umiditatea medie) şi xerofite (preferă mediul uscat). Majoritatea bacteriilor şi levurilor sînt hidrofite; multe ciuperci miceliale sînt mezofite, dar printre ele se întîlnesc şi hidrofite şi xerofite. Pentru bacterii umiditatea minimală necesară a substratului, inclusiv şi a produselor alimentare, e de 20—30%, pentru ciupercile miceliale — 11—13% (ele se pot dezvolta pe substraturi abia umede).

Pentru dezvoltarea microorganismelor mărimea absolută, adică cantitatea totală a umidităţii din substrat, n-are nici o importanţă, importantă e accesibilitatea ei. Apa bogată din punct de vedere chimic, spre exemplu în coloizii celulei (proteinele, polizaharidele etc.), nu este accesibilă pentru microorganisme, în special nu poate servi ca dizolvant al substanţelor nutritive. Microorganismele se dezvoltă numai în prezenţa umidităţii accesibile. Accesibilitatea apei din substrat (produs) se numeşte activitatea apei — (a_w). Acest indiciu exprimă raportul dintre presiunea vaporilor de apă de la suprafaţa substratului (P) şi presiunea vaporilor de apă de la suprafaţa apei curate (P_o) la aceeaşi temperatură:

$$a_w = P/P_o$$

Valoarea activităţii apei a_w poate fi de la 0 pînă la 1 şi caracterizează umiditatea relativă a substratului. Activitatea apei distilate

Tabelul 1

Produsul	Umiditatea, %	Activitatea apei	Produsul	Umiditatea, %	Activitatea apei
Fructe	90—95	0,97	Făină	16—19	0,80
Ouă	70—80	0,97	Marţipan	15—17	0,75
Carne	60—70	0,97	Miere	10—15	0,75
Brînză	40	0,96	Caramele	7—8	0,65
Pîine	40—50	0,95	Biscuiţi	6—9	0,60
Gem	30—35	0,94	Ciocolata	5—7	0,40
Checuri	20—28	0,83	Zahăr	0—0,15	0,10

este egală cu 1, iar activitatea apei produsului deshidratat complet este egală cu 0. În tabelul 1 sînt prezentate valorile activităţii apei şi a umidităţii unor produse.

Indiciul activităţii apei este mai sigur pentru a caracteriza cantitatea umidităţii în comparaţie cu valoarea umidităţii absolute a substratului (produsului), care variază în dependenţă de umiditatea relativă a aerului. Microorganismele pot activa la a_w de la 0,999 pînă la 0,62.

Activitatea apei din substrat de o valoare mai mică reţine dezvoltarea microorganismelor. Fiecare microorganism are valoarea sa minimă a a_w (extrema critică), mai jos de care el nu se dezvoltă. Pentru majoritatea bacteriilor, inclusiv şi pentru cele sporogene (*Clostridium*), a_w=0,95—0,90, cu excepţia galofililor (ce preferă sarea), pentru care a_w=0,75. Pentru majoritatea levurilor a_w=0,88, în afară de osmofile, pentru care a_w=0,62; pentru ciupercile miceliale a_w=0,8, în afară de herofite, pentru care a_w=0,65. Astfel, pentru a împiedica dezvoltarea majorităţilor bacteriilor din produse şi pentru a preveni alterarea lor activitatea apei trebuie să fie egală cu 0,8, pentru a împiedica dezvoltarea levurilor — cu 0,7, a ciupercilor miceliale — cu 0,6.

Pentru a evita alterarea microbială a produselor alimentare se recurge la diferite căi de micşorare a activităţii apei şi anume: deshidratarea, uscarea la aer şi la soare, adăugarea diferitelor substanţe solubile (sare, zahar) în produs, cît şi congelarea.

Deshidratării, uscării la aer şi la soare sînt supuse legumele, fructele, carnea, peştele, ierburile aromate. Uscate se păstrează făina, crupele, laptele etc. La păstrarea acestor produse e necesar a menţine o temperatură şi umiditate necesare. În stare uscată pot fi păstrate şi microorganismele. Bunăoară, bacteriile lactice îşi păstrează viabilitatea zeci de ani, graţie cărui fapt plămada uscată e folosită la fabricarea produselor lactate acide. Drojdiile uscate de panificaţie îşi păstrează activitatea timp de doi ani. Cele mai rezistente la uscare sînt bacteriile sporogene.

Influenţa presiunii osmotice. În viabilitatea microorganismelor un rol important joacă presiunea osmotică, ce depinde de concentraţia substanţelor dizolvate în mediu. În mediile naturale de existenţă (apă, sol) microorganismele se întîlnesc cu diferite substanţe di-

zolvate în cantități diverse, deci și cu diferite mărimi ale presiunii osmotice. Spre exemplu, în bazinele cu apă dulce presiunea osmotică e mult mai mică decît în cel sărate.

În dependență de mediul de trai presiunea osmotică interioară a microorganismelor oscilează în limite mari. La majoritatea bacteriilor, inclusiv și la provocatorii alterărilor produselor alimentare, ea constituie 0,5—1,5 MPa, la bacteriile solului — 5—8 MPa, la microorganismele lacurilor și solurilor sărate — 10 MPa, iar la unele ciuperci miceliale (specia *Aspergillus*)— 20—25 MPa. Presiunea osmotică interioară a celulelor microorganismelor e ceva mai înaltă decît cea a mediului ambiant. Aceasta este una din condițiile viabilității normale a microorganismelor. Presiunea osmotică optimă a microorganismului se menține în celulă datorită capacităților ei de osmoreglare. La osmoreglare este întreținută viabilitatea microorganismelor chiar și în cazul cînd presiunea osmotică a mediului ambiant oscilează în limite mari.

Funcția de osmoreglare e înfăptuită de mecanismul activ al transportării substanțelor. Schimbarea concentrației obișnuite a mediului apoi și a presiunii osmotice a substratului poate duce la dereglarea metabolismului în celulele microorganismelor vitale și chiar la moartea lor.

În cazul cînd microorganismele nimeresc în substrat cu o concentrație neînsemnată de substanțe (de exemplu, în apă distilată), în celulele lor are loc fenomenul plasmoptiz (saturarea excesivă a citoplasmei cu apă), care duce la denaturarea MCP și a peretelui celular și la moartea celulei.

Dacă microorganismele nimeresc într-un mediu cu concentrația substanțelor mai mare ca cea optimă, în celule are loc fenomenul de plasmoliză (deshidratarea citoplasmei), volumul lor se micșorează, ceea ce duce la deteriorarea MCP.

În procesuul plasmolizei în celule se întrerupe metabolismul și ele trec în starea de anabioză, cînd unele microorganisme își păstrează viabilitatea timp îndelungat, iar altele pier. Anume aceste fenomene stau la baza unor metode de păstrare a produselor cu ajutorul soluțiilor concentrate de zahăr și sare.

Unele microorganisme pot crește în soluții foarte diluate, altele — chiar și în soluții suprasaturate de sare. Microorganismele care pot exista în substraturi cu presiune osmotică înaltă sînt numite osmofile. Majoritatea mediilor de trai naturale cu presiune osmotică înaltă conțin o concentrație mare de săruri (mai ales NaCl). Microorganismele care se dezvoltă în astfel de medii se numesc galofile. Microorganismele galofile sînt de două feluri: moderate și extreme. Galofilele moderate se pot dezvolta la concentrația sării de 1—2%, foarte prielnic le e mediul cu concentrația sării de 10% și pot suporta chiar și concentrația de 20%. Galofilele extreme nu se pot dezvolta dacă concentrația sării e mai mică de 12—15%, dar se dezvoltă foarte bine la concentrația de 30% (soluție saturată).

Majoritatea microorganismelor nu rezistă la concentrații înalte

(mai mari de 5%) de sare în mediu. Multe microorganisme încetează să se reproducă chiar la cantitatea de NaCl de 1—3%, colibacilii nu se pot reproduce nici la 4—5% de sare, iar bacteriile de putrefacție — la 5—10%. Unele microorganisme patogene (spre exemplu, provocatorii botulismului) nu se reproduc la 6—10% de NaCl, în schimb își păstrează activitatea chiar și la 20%, trecînd în stare anabioză.

Capacitatea microorganismelor de a nu se dezvolta în medii cu concentrații înalte de sare sau zahăr e folosită cu succes în industria alimentară la conservarea diferitelor produse. Spre deosebire de sarea de bucătărie, zahărul pentru majoritatea microorganismelor e o substanță nutritivă de preț, de aceea pieirea lor poate fi provocată numai de concentrația înaltă a lui în soluție (mai mare de 65—70%).

Întrebuințarea soluțiilor concentrate de zahăr și sare pentru păstrarea pomușoarelor, fructelor, legumelor, cărnii, peștelui etc. este, de fapt, un proces de uscare al produselor pe calea osmozei, deoarece produsele sînt scufundate în soluție, unde activitatea apei e mai mică ca în produse. Prin urmare, au loc simultan doi contracurenți: din soluție în produs difundează substanța dizolvată (sarea, zahărul), iar din produs în soluție — apa. Astfel în produs are loc micșorarea activității apei, mediul devine nefavorabil pentru dezvoltarea microorganismelor și previne alterarea produsului.

Și totuși alterarea microbială e posibilă și în aceste cazuri. Așa, bunăoară, alterarea mierii, dulceții, gemului și a altor produse, ce conțin zahăr pînă la 90%, e provocată de levurile osmofile (are loc fermentarea produselor) și de ciupercile miceliale (mucegăirea produselor). Pentru prevenirea alterării mierii, dulceții etc. e necesar a respecta cerințele sanitaro-igienice înalte față de producție, iar produsele gata a le păstra la o temperatură joasă.

Influența concentrației ionilor de hidrogen. Concentrația ionilor de hidrogen (pH) în mediul de trai este un factor însemnat, de care depinde dezvoltarea și reproducerea microorganismelor. Exponentul ionilor de hidrogen al reacției mediului pH indică gradul acidității lui (pH de la 7 pînă la 1) sau alcalinitatea lui (pH de la 7 pînă la 14); pH 7 corespunde reacției neutre a mediului.

În condițiile naturale procarioții (bacteriile) se pot dezvolta în limita pH-ului de la 1 pînă la 11. În dependență de raportul față de pH ei pot fi împărțiți în trei grupuri: neutrofili, acidofili și alcalofili.

N e u t r o f i l i i preferă reacții neutre ale mediului, pH-ul optim pentru dezvoltarea lor fiind 6,8—7,3, maxim — 9, minim — 4.

Majoritatea bactereliilor sînt neutrofile (bacteriile de putrefacție, excitanții intoxicațiilor alimentare, colibacilii etc.).

A c i d o f i l i i (ce preferă aciditatea) se dezvoltă la pH-ul optim 4 și mai mic (bacteriile acetice și alte bacterii producătoare de acizi.

A l c a l o f i l i i (ce preferă alcalii) se dezvoltă la pH-ul optim 9 și mai mare (unele bacterii intestinale — vibrionul holerei etc.).

Sporii, de regulă, sînt mai rezistenți la modificările pH-ului decît celulele vegetale.

Pentru majoritatea eucarioţilor (ciupercilor miceliale, levurilor) pH-ul optim este 4,5—6; minim pentru levuri — 3, pentru ciuperci — 1,5; maxim pentru levuri — 8,5, pentru ciuperci — 10. Aşadar, ciupercile miceliale se pot dezvolta într-o limită mai mare a pH-ului în comparaţie cu levurile.

Dacă pH-ul nu corespunde mărimii optime, microorganismele nu se pot dezvolta normal, chiar şi dispunînd de toate substanţele nutritive necesare, deoarece pH-ul influenţează asupra activităţii fermenţilor celulei şi a permeabilităţii peretelui ei.

Pentru bacterii reacţia acidă a mediului e mai periculoasă decît cea alcalină. Reacţia acidă e nefavorabilă mai ales pentru dezvoltarea bacteriilor de putrefacţie, pH-ul optim al cărora se află în regiunea slab alcalină (pH 7,5). La acest proces se recurge în cazul conservării produselor prin marinare şi murare. La marinarea produselor se adaugă acid acetic, la murat se creează condiţiile necesare pentru dezvoltarea bacteriilor lactice, care produc acid, astfel împiedicînd dezvoltarea bacteriilor de putrefacţie.

Influenţa oxigenului. Unul dintre factorii principali ai mediului de trai al microorganismelor este oxigenul. El e necesar microorganismelor atît pentru metabolismul constructiv, cît şi pentru cel energetic. Cea mai mare parte a microorganismelor folosesc în metabolismul lor şi oxigenul legat în compuşi, şi cel molecular (O_2). Există microorganisme, ce nu au nevoie de oxigen molecular, adică procesele constructive şi energetice decurg fără participarea oxigenului (anaerobe tipice).

Anaerobi tipici sînt provocatorii botulismului, sporii cărora nimeresc pe ciuperci din sol. La conservarea ciupercilor în condiţii casnice, în scopul prevenirii apariţiei botulismului, borcanele nu trebuie umplute tare, ci e necesar a lăsa un spaţiu aerian. Oxigenul din acest spaţiu va împiedica dezvoltarea sporilor. Pentru prevenirea dezvoltării microorganismelor aerobe dăunătoare în vinificare e necesar ca rezervoarele să fie pline cu vin, să nu pătrundă oxigenul, necesar pentru dezvoltarea lor.

Influenţa energiei radiaţiei electromagnetice. Microorganismele, ca şi orice vietate, se află permanent sub influenţa diferitelor tipuri de radiaţie, care acţionează în mod diferit asupra lor. La ele se referă radiaţiile electromagnetice cu lungime de undă diferită: radiaţie care ionizează (cosmică, razele roentgen şi radiaţiile radioactive), razele ultraviolete, lumina de zi, undele radioelectrice.

Mecanismul de acţiune a diferitelor forme de energie radiantă asupra microorganismelor diferă. Sub acţiunea lor în celule sau în substrat sînt provocate schimbări fizice şi chimice. Numai atunci radiaţia poate acţiona asupra unei substanţe din celula vie, cînd ea va fi absorbită de această substanţă. Efectul radiaţiei depinde în mare măsură de capacitatea de pătrundere a razelor. Efectul biologic al radiaţiei depinde de lungimea undelor de iradiere şi de doza ei.

R a d i a ţ i a i o n i z a n t ă. La ea se referă razele cosmice, roentgen şi radiaţiile radioactive (razele α, β şi γ), ce apar în urma

dezintegrării elementelor radioactive. Ele au lungimea de undă cea mai scurtă şi posedă o capacitate de pătrundere înaltă.

Efectul acţiunii iradierii de ionizare asupra microorganismelor depinde de doza de radiaţie (de cantitatea energiei absorbite). În doze mici aceste raze stimulează mărirea intensităţii proceselor vitale, mărirea dozei duce la apariţia mutaţiilor, iar mărirea de mai departe provoacă moartea. Microorganismele sînt mai puţin sensibile faţă de iradierele de ionizare decît organismele superioare. Moartea microorganismelor e provocată de doza de radiaţie, care e de sute şi mii de ori mai înaltă ca doza mortală pentru animale.

Acţiunea dăunătoare a iradierii de ionizare e condiţionată de un şir de factori. Ea provoacă radioliza apei din celule şi substraturi. În urma acestui fapt se formează radicali liberi, hidrogen atomar, peroxizi. Aceşti compuşi posedă o activitate chimică înaltă, reacţionează cu alte substanţe şi ca urmare iau naştere multe reacţii chimice, ce nu sînt caracteristice celulei vii. În cele din urmă începe dereglarea adîncă a metabolismului, se distrug fermenţii şi se modifică structurile interne. O sensibilitate mare posedă ADN, ceea ce şi duce la mutaţii. În substraturi se acumulează substanţe toxice pentru microorganisme, care le deprimă dezvoltarea.

Rezistenţa microorganismelor faţă de aceste iradieri e diferită. Cele mai sensibile sînt bacteriile gramnegative (colibacilii, salmonelele, bacteriile de putrefacţie *Pseudomonas*). O rezistenţă mică o au bacteriile psihrofile. Cele mai rezistente sînt bacteriile grampozitive, mai ales unii micrococi *(Micrococcus radiodurans)* şi sporii bacteriilor speciilor *Bacillus* şi *Clostridium,* rezistenţa lor e de 10—12 ori mai mare decît a celulelor vegetale. Sensibilitatea ciupercilor miceliale şi a unor levuri e la fel ca şi a sporilor bacteriali.

Iradierea de ionizare, în special a razelor γ, se întrebuinţează larg în medicină pentru dezinfecţia apei. În industria alimentară se practică prelucrarea produselor cu doze mici de iradiere γ (de la 0,2 pînă la 0,6 *Mrad*[1]), spre exemplu prelucrarea suprafeţei pîinii ambalate, a pomuşoarelor, fructelor uşor alterabile, cartofilor, cărnii, peştelui în scopul nimicirii parţiale a microorganismelor din produse. Aceasta reduce simţitor gradul de însămînţare a lor cu microorganisme, sporind perioada de păstrare a produselor, mai ales în frigidere. Prelucrarea produselor cu raze γ poartă denumirea de r a d u r i z a r e.

I n f l u e n ţ a r a z e l o r u l t r a v i o l e t e (UV). Acţiunea razelor ultraviolete e asemănătoare cu a iradierii de ionizare; ele, în dependenţă de felul microorganismelor, doza şi durata radiaţiei, ori provoacă moartea, ori duc la mutaţii.

Cele mai sensibile faţă de razele UV sînt bacteriile, în special cele patogene. Printre bacteriile nesporogene foarte sensibile sînt cele care elimină în mediul ambiant pigmenţi (bacteriile de putrefacţie *Pseudomonas fluorescens).* Foarte rezistente la razele UV

---

[1] Rad — unitate de măsură a dozei iradierii de ionizare; Mrad — megarad= =1 mln. rad.

sînt microorganismele ce conțin pigmenți carotinoizi (bacterii, levuri), deoarece ei absorb razele UV, determinînd proprietățile protectoare ale microorganismelor.

Sporii bacteriilor sînt cu mult mai rezistenți la acțiunea razelor UV decît celulele vegetale; pentru distrugerea sporilor e necesară o enrgie de 4—5 ori mai mare. Conidiile ciupercilor sînt mai stabile ca miceliul.

Razele UV cu lungimea de undă 250—260 nu distrug microorganismele. Aceasta se explică prin faptul că razele UV, pe de o parte, acționează nemijlocit asupra celulei, iar pe de alta, asupra substratului. În urma radiației în mediu se pot forma substanțe (peroxidiul de hidrogen, ozonul) cu acțiune distrugătoare asupra microorganismelor. Razele UV sînt absorbite de substanțele de bază ale celulei (proteine, ADN, ARN), provocînd schimbări chimice ce distrug celula. Efectul letal al razelor UV cu lungimea de undă de 260 nm se explică prin faptul că anume în acest diapazon are loc absorbția maximă a razelor UV de către moleculele ADN și ARN.

Razele UV sînt întrebuințate la dezinfectarea aerului în încăperile medicale și de producere, utilajului de producere, tarei. La dezinfectarea aerului timp de 6 ore sînt distruse 80% din microorganisme. Razele UV pot fi întrebuințate și in scopul prevenirii pătrunderii microorganismelor în procesul turnării și a ambalajului produselor alimentare, cît și a preparatelor medicinale. Folosirea razelor UV la sterilizarea produselor alimentare e limitată din cauza capacității lor joase de pătrundere, ceea ce duce numai la dezinfectarea produsului la suprafață (pîinea ambalată). Laptele și untul, în urma prelucrării cu raze UV, capătă un gust specific neplăcut, pierzîndu-și calitățile nutritive. Razele UV sînt folosite cu succes la dezinfectarea apei potabile.

L u m i n a. De lumina solară au nevoie numai bacteriile fototrofe, care folosesc energia solară la sinteza substanțelor organice din CO_2. Asupra restului microorganismelor lumina are acțiune distrugătoare din cauza acțiunii razelor UV din spectrul solar.

Influența undelor radioelectrice. Undele radioelectrice sînt unde electromagnetice cu lungimea de undă destul de mare: cele scurte au lungimea de la 10 pînă la 50 m, cele ultrascurte — de la 10 m pînă la cîțiva mm. În rezultatul trecerii undelor radioelectrice în mediu apar curenți alternativi de frecvență înaltă (FÎ) și de frecvență ultraînaltă (FUÎ). Energia electrică, ce apare în mediu, trece în energie termică. Caracterul de încălzire cu ajutorul energiei FÎ și FUÎ se deosebește radical de metodele obișnuite de încălzire. Obiectul se încălzește momentan și simultan în toate punctele volumului. Așa, bunăoară, un pahar cu apă în cîmpul FUÎ începe să fiarbă timp de 2—3 sec., 1 kg de pește fierbe timp de 2 min., 1 kg de carne — 2,5 min., găina — 6—8 min.

Provocînd încălzirea mediului, cîmpul FUÎ acționează distrugător asupra microorganismelor. Cauza distrugerii lor este deteriorarea celulei sub influența temperaturii înalte. Cu toate acestea meca-

nismul acţiunii energiei FUÎ asupra microorganismelor nu e studiat îndeajuns.

Folosirea energiei FUÎ pentru prelucrarea termică a produselor alimentare are o perspectivă mare. Ea poate fi întrebuinţată la pasteurizarea şi sterilizarea sucurilor de fructe, compoturilor etc., fierberea, uscarea, încălzirea şi coacerea produselor. Există instalaţii FUÎ de acţiune periodică şi continuă.

Rapiditatea încălzirii FUÎ asigură păstrarea calităţilor guştative şi nutritive ale produselor alimentare, iar efectul acţiunii asupra microflorii e ca şi la prelucrarea termică tradiţionala.

Influenţa acţiunii ultrasunetului. Ultrasunetele (US) sînt oscilaţii mecanice de frecvenţă mai înaltă de 20 000 Hz[1] (20 kHz), care iese din limitele frecvenţei sesizate de om. Oscilaţiile US accelerează multe reacţii chimice, provoacă descompunerea compuşilor macromoleculari, coagularea proteinelor, inactivarea fermenţilor şi toxinelor, ruperea peretelui celular şi chiar distrugerea structurilor interne celulare. Efectul funest al US se manifestă la o intensitate[2] de 0,5—1,0 Vt/cm şi o frecvenţă de oscilaţie de zeci de kHz.

Dintre microorganisme cele mai sensibile la acţiunea US sînt bacteriile (în comparaţie cu drojdiile); bacteriile în formă de bastonaş sînt mai sensibile decît cele sferice.

Sporii bacteriilor sînt mai rezistenţi decît celulele vegetale.

Mecanismul acţiunii US asupra microorganismelor e studiat insuficient. Se presupune că distrugerea microorganismelor are loc datorită aşa-numitului efect cavitaţie. În urma trecerii undelor ultrascurte prin lichid se formează rupturi mici, care, graţie forţelor tensiunii superficiale a lichidului, iau forma bulelor. În timpul plesnirii bulelor cavitaţionale apare o undă hidraulică de şoc foarte puternică cu acţiune distrugătoare enormă.

Folosirea practică a undelor US în scopul sterilizării e efectivă numai pentru produsele alimentare lichide (lapte, sucuri de fructe, vin), pentru apa, pentru spălarea şi sterilizarea vaselor de sticlă pentru ambalaj. La prelucrarea produselor alimentare consistente cu ajutorul undelor US are loc nu numai nimicirea microroganismelor, ci şi deteriorarea moleculelor materiei prime.

§ 3. Factorii biotici

În condiţii naturale microorganismele se ciocnesc de acţiunile diferiţilor factori biotici. Factorii biotici includ toate formele de acţiune reciprocă între microorganisme, cît şi asupra plantelor, animalelor şi a omului. La simbioză (convieţuire) microorganismele acţionează prin intermediul produselor activităţii lor vitale, care pot avea şi acţiune prielnică (spre exemplu vitaminele), şi distrugătoare (spre exemplu, antibioticele, toxinele).

---

[1] Herţ (Nz) — unitate de măsură a frecvenţei de oscilaţie 1 Hz=1 sec^{-1} (o oscilaţie pe secundă).

[2] Intensitatea undelor US e determinată de cantitatea de energie, care revine la o unitate de suprafaţă într-o unitate de timp.

Formele relațiilor simbiotice sînt foarte diverse. Ele pot fi împărțite în două grupuri: relații asociative (prielnice) și antagoniste (de concurență).

Formele asociative ale simbiozei. Ele sînt pe larg răspîndite în natură și stau la baza circuitului substanțelor în natură. La ele se referă: metabioza, mutualismul, sinergismul și comensalismul.

M e t a b i o z a e o formă a simbiozei, în procesul căreia se creează condiții de dezvoltare succesivă a unor microorganisme pe seama produselor activității vitale a altora. De exemplu, alterarea substanțelor cu un conținut mare de zahar (sucurile de fructe și pomușoare, fructele vătămate, pomușoarele); la început activează levurile, care transformă zaharul în spirt, apoi bacteriile acetice prelucrează spirtul în acid acetic, care, în sfîrșit, e oxidat în H_2O și CO_2 de către ciupercile miceliale. Metabioza e cea mai răspîndită formă a relațiilor asociative.

M u t u a l i s m u l e conviețuirea bazată pe profitul reciproc. De exemplu, conviețuirea bacteriilor aerobe și anaerobe în natură. Aerobii absorb oxigenul, creînd condiții favorabile de dezvoltare pentru anaerobi.

S i n e r g i s m u l e intensificarea funcțiilor fiziologice a microorganismelor în urma cultivării în comun. La pregătirea maielei pentru chefir sînt folosite levurile și bacteriile lactice. Levurile sintetizează vitaminele, necesare bacteriilor lactice, foarte pretențioase față de factorii de creștere, iar acidul lactic creează pH-ul normal pentru dezvoltarea levurilor.

C o m e n s a l i s m u l e o formă de conviețuire, cînd un organism trăiește pe seama altuia, fără a-i pricinui vreo daună. Drept exemplu pot servi bacteriile microflorei obișnuite a corpului omenesc.

Formele antagoniste al simbiozei. La acest grup de relații simbiotice se referă astfel de fenomene ca antagonismul, antibioza, parazitismul și rapacitatea.

A n t o g o n i s m u l este un tip de relații, cînd unul dintre organisme împiedică sau reprimă dezvoltarea altuia cu ajutorul produselor activității sale vitale. Drept exemplu de microbi antagoniști pot servi bacteriile lactice și cele de putrefacție. Bacteriile lactice, producînd acidul lactic, creează un mediu acid și astfel împiedică dezvoltarea bacteriilor de putrefacție. Fenomenul de antagonism e folosit la prepararea verzei murate.

A n t i b i o z a e legată de capacitatea unor microorganisme de a elimina în mediul înconjurător niște substanțe specifice, numite antibiotice, care deprimă activitatea vitală a altor microorganisme. Ele pot avea acțiune largă asupra multor microorganisme sau acțiune selectivă numai asupra unor organisme.

Producători de antibiotice pot fi ciupercile miceliale (*Penicillium, Aspergillium*), bacteriile (producătoare de gramicidină) și, în special, actinomicetele (producătoare de streptomicină, oxitetraciclină, biomicină, tetraciclină etc.). Antibioticele sînt folosite în calitate de preparate medicinale, pot fi întrebuințate și ca adaos în hrana pentru tineretul animal, păsări etc. Așa, bunăoară, adaosul

biomicinei nutritive contribuie la sporirea în greutate a animalelor şi a capacităţii de ouat a găinilor.

P a r a z i t i s m u l apare în rezultatul relaţiilor de convieţuire simbiotică, cînd unul dintre parteneri se bucură numai de profit, pricinuind altuia daune. Ca exemplu pot servi microorganismele patogene şi viruşii, provocatori de boli infecţioase ale omului, animalelor şi plantelor, cît şi fagii. Bacteriofagii se întîlnesc în producerea brînzei şi a margarinei, actinofagii — a antibioticelor (fiind cauza nimicirii unor culturi de producere preţioase).

R a p a c i t a t e a e parazitismul în afara celulei. Bacteriile rapace formează o colonie mobilă — plasă, care acapără celulele măşcate ale altor bacterii, ce l i z e a z ă (se distrug) şi sînt folosite înăuntrul coloniei, iar resturile sînt aruncate. Bacteriile rapace cel mai frecvent se întîlnesc în nămolul bazinelor de apă.

§ 4. Factorii antropogeni

Aceşti factori ecologici sînt o consecinţă a activităţii omului, în procesul căreia are loc poluarea mediului ambiant. Sursa principală a poluării bazinelor de apă, spre exemplu, sînt apele menajere şi industriale. Astfel are loc poluarea apei, în special cu substanţe organice. Mai nimeresc şi substanţe minerale, multe microorganisme, inclusiv şi patogene.

Apele de scurgere industriale sînt apele folosite la întreprinderi, poluate cu diferite impurităţi, şi apele fierbinţi ale staţiilor electrice termice (poluarea caldă a apelor). Ele au o acţiune toxică asupra biocenozei bazinului cu apă, deoarece conţin metale grele (scurgerile de la întreprinderile metalurgice şi chimice), şi contribuie la dezvoltarea în masă a microorganismelor, inclusiv şi a celor patogene (scurgerile industriei alimentare, pielăriei, de celuloză).

În unele cazuri biosfera e poluată de surse naturale: metalele grele nimeresc în apă din rocile de munte. Metalele nimeresc în apă (hidrosferă) în fond prin aer şi în urma precipitaţiilor. Din apă metalele nimeresc în sol şi, astfel poluarea devenind universală. În prezent în urma revoluţiei tehnico-ştiinţifice poluarea a crescut considerabil, acţionînd negativ asupra tuturor vietăţilor de pe Pămînt. În tabelul 2 sînt oglindite tipurile de poluare.

Problema poluării mediului ambiant e la fel de acută şi în privinţa atmosferei, şi a hidrosferei (Oceanul Mondial, apele dulci), şi a solului. Au apărut şi noi tipuri de poluare — substanţele radioactive şi diferiţi compuşi artificiali.

Cele mai răspîndite mijloace de poluare ale mediului ambiant dintre compuşii organici artificiali sînt pesticidele (substanţe chimice, folosite la protecţia plantelor contra dăunătorilor, bolilor şi buruienilor); agenţii activi de suprafaţă (AAS), care alcătuiesc baza detergenţilor moderni (a prafurilor de spălat); materialele sintetice polimere (masele plastice, polietilena, fibrele sintetice) etc.

Mulţi din aceşti compuşi nu se descompun pe cale naturală sau se descompun parţial, alţii se descompun foarte lent (perioada de

Tabelul 2

Tipurile de poluare şi răspîndirea lor în biosferă

Tipul poluării	Atmosfera	Hidrosfera	Solul
Poluările fizice			
Substanţe radioactive	+	+	+
Poluarea caldă a apei	—	+	—
Poluările chimice			
a) *naturale*			
Derivaţi gazoşi ai carbonului (CO, CO_2) şi ai sulfului (SO_3)	+	—	—
Hidrocarburi lichide ale combustibilului (petrol şi produse petroliere)	—	+	—
Metale grele (Hg, Zn, Cu, Cd, Co, Cr, Pb, Sn, As etc.)	+	+	+
b) *artificiale, sintetice*			
Pesticide	+	+	+
Agenţi activi de suprafaţă ai detergenţilor	—	+	—
Mase plastice, polietilena, fibre sintetice etc.	+	+	+
Îngrăşăminte minerale:			
de sulf	+	+	+
de azot	+	+	+
de fosfor	—	+	+

descompunere a izotopului radioactiv e de aproximativ 200 de ani). Rămăşiţele nedescompuse ale compuşilor organici artificiali şi substanţele radioactive se acumulează în diferite obiecte ale mediului înconjurător. Astfel apare pericolul nimeririi lor în produsele alimentare şi migraţiei în organismul omului. În rezultatul acţiunii factorilor antropogeni au loc dereglări ale echilibrului ecologic al biosferei.

§ 5. Rolul microorganismelor în ocrotirea mediului ambiant de poluare

Microorganismele au capacitatea de a efectua degradarea biologică (distrugerea), prin urmare, şi detoxicarea (dezinfectarea) unui şir de poluări ale apei şi solului.

Orice ape de scurgere înainte de a nimeri în bazinele de apă deschise sînt supuse purificării. Prelucrarea lor se efectuează cu ajutorul instalaţiilor de epurare a apei, ce trebuie să asigure un grad înalt de puritate al apei, astfel încît bazinele de apă să fie folosite drept surse de alimentare cu apă potabilă a populaţiei şi întreprinderilor industriale, cît şi pentru odihnă, pescuit etc.

Purificarea apelor de scurgere cu un conţinut mare de substanţe organice se efectuează prin metode biologice de purificare. Ele se bazează pe activitatea biochimică a microorganismelor, adică pe capacităţile lor de a transforma diferite substanţe or-

ganice şi minerale în procesul metabolismelor constructiv şi energetic.

Metodele biologice de purificare se împart în aerobe şi anaerobe.

Purificarea biologică aerobă. Această metodă se efectuează în condiţii naturale şi artificiale cu participarea aerului. În afară de substanţele organice se oxidează şi compuşii minerali neoxidaţi ai apelor de scurgere (hidrogenul sulfurat, amoniacul, nitriţii).

Purificarea în condiţii naturale se efectuează pe calea filtrării apelor de scurgere prin straturile de sol pe cîmpurile de irigaţie sau pe cîmpurile de filtrare (metode pedologice de purificare), cît şi în iazurile biologice sau de purificare.

Cîmpurile de irigaţie se deosebesc de cele de filtrare prin faptul că pe ele, după filtrarea apelor de scurgere, se cultivă legume, pe cînd cele de filtrare sînt destinate numai pentru purificarea apelor de scurgere în perioada desfăşurării lucrărilor agricole pe cîmpurile de irigaţie.

Ambele metode sînt numite pedologice, deoarece apele de scurgere se infiltrează lent prin stratul de pămînt cu grosimea de 1,5—2 m (stratul activ al solului constituie 10 cm). Aici există biocenoza, formată din cele mai simple rîme şi larve ale insectelor, care afînează straturile superioare ale solului, ameliorînd aerarea lui, însă cei mai principali componeţi ai biocenozei sînt microorganismele apelor de scurgere şi cele proprii solului. Anume aici au loc cele mai intense procese microbiologice de mineralizare a substanţelor organice şi de nitrificare activă. Numărul bacteriilor de nitrificare de pe cîmpurile de filtrare e de 100 de ori mai mare decît numărul lor pe cîmpurile arabile obişnuite.

În cazul folosirii metodelor pedologice de purificare în stratul de filtrare a solului se reţin 99% din microorganismele ce se află în apele de scurgere. Apa de scurgere purificată nimereşte prin conductele de drenaj în bazinele deschise. În scopul dezinfectării ea uneori se clorează.

Iazurile biologice (de purificare) reprezintă un şir de bazine artificiale de apă neadînci, în care purificarea biologică a apelor de scurgere se bazează pe aceleaşi procese ca şi la autopurificarea naturală a bazinelor.

Procesele aerobe se folosesc nu numai la metodele naturale de purificare, dar şi la cele artificiale, şi anume la instalaţiile de purificare a apelor de scurgere în biofiltre (aerofiltre), cît şi în aerotancuri. Procesul de purificare în aerotancuri e asemănător cu metodele naturale de purificare cu excepţia faptului că în ele saturarea cu oxigen se efectuează cu ajutorul dispozitivelor de aerare, de pulverizare şi de amestecare a apei.

Procesul de purificare biologică e precedat de purificarea mecanică (sedimentarea). În acest scop se folosesc denisipatoarele, cursele pentru grăsimi, plase, decantoare primare etc. Purificarea biologică se efectuează cu ajutorul microorganismelor fixate (peliculă biologică în biofiltru) sau a celor ce plutesc liber în apă (fulgii nă-

t i n a r e, iar levurile ce aglutinează se numesc l e v u r i-f u l g i. In vinificare acest proces e deosebit de important, deoarece înlesneşte procesul de limpezire a vinului după terminarea fermentării.

Rasele incapabile de a aglutina sînt numite p u l v e r u l e n t e. In vinificarea primară ele nu se întrebuinţează şi sînt folosite la producerea şampaniei de rezervor.

Membrana citoplasmatică serveşte drept barieră osmotică a celulei. Ea constă din acizi nucleici, proteine şi polizaharide.

Citoplasma celulei este omogenă. In ea decurg procesele de schimb ale substanţelor de importanţă vitală colosală. Ea posedă capacitatea de selecţie a perceperii diferitelor substanţe. **Astfel,** spre exemplu, zaharoza din soluţie nu e percepută de ea, pe cînd glucoza, fructoza, acizii organici şi sărurile trec liber. In citoplasmă decurg transformări complicate ale substanţelor, ce pătrund în ea: o parte se consumă pentru însăşi formarea citoplasmei şi a membranei celulei, altă parte serveşte ca izvor de energie necesară pentru procesele vitale.

Citoplasma are capacitatea de mişcare, mai ales în celulele tinere. Ea mai are şi capacitatea de a se contracta şi de a se alungi, în urma cărui fapt forma vacuolei centrale (cavitate umplută cu suc celular) se schimbă.

Citoplasma reprezintă un sistem coloidal complicat, mediul de dispersie al căruia e apa, ce conţine hidraţi de carbon, săruri minerale, aminoacizi şi fermenţi dizolvaţi în ea. Viscozitatea citoplasmei depăşeşte viscozitatea apei de 800 de ori. Pe măsura îmbătrînirii celulei viscozitatea citoplasmei creşte, apare o granulaţie şi o vacuolizaţie măruntă cît şi granule de grăsime.

N u c l e u l — organ al celulei — se află în citoplasmă şi este purtătorul capacităţilor ereditare ale organismului. Are forma de băşică eliptică sau ovală cu diametrul aproximativ de 2 mkm, înconjurată de o peliculă foarte subţire. Conţine un lichid străveziu — nucleoplasma şi o cariozomă mai densă (nucleolul).

Nucleul este un conglomerat de cromozomi lipiţi, neomogeni, formaţi din structuri granuloase în formă de bastonaşe. Numărul lor poate fi de la 4 pînă la 10—12 — în dependenţă de genul şi specia levurilor. In nucleu se află acid dezoxiribonucleic (ADN) în formă de incluziuni izolate. Cu ajutorul lui se transmit caracterele fiziologice. In procesul înmulţirii nucleul se devide în 2 părţi, iar la formarea sporilor — într-un număr de părţi egal cu numărul sporilor formaţi.

M i t o c o n d r i i l e (condriozomi) (fig. 3) de asemenea fac parte din organele celulei. Ele sînt nişte structuri mici în formă de granule, bastonaşe sau filamente. Membrana lor constă din două straturi. De la membrana interioară în adînc pornesc numeroase ieşituri numite creşte. Lungimea mitocondriilor e de 0,4—1,0 mkm, lăţimea — 0,2—0,5 mkm. Ele conţin 30% de lipide şi 50% de proteine. Mitocondriile servesc drept aparat de respiraţie, în care sînt concentraţi fermenţii de oxidare.

Ribozomii sînt organele, în care are loc sinteza proteinelor din

CAPITOLUL 5

PROCESELE BIOCHIMICE PRINCIPALE, FOLOSITE ÎN INDUSTRIA ALIMENTARĂ

În industria alimentară se folosesc procesele bazate pe activitatea vitală a chemoheterotrofilor. După substratul pe care activează microorganismele chemoheterotrofe toate procesele pot fi împărțite în două grupuri de bază: transformarea substanțelor organice ce nu conțin azot (diferite fermentări și oxidări); transformarea substanțelor organice, care conțin azot (putrefacția).

TRANSFORMĂRILE SUBSTANȚELOR ORGANICE FĂRĂ AZOT

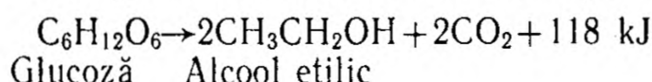
§ 1. Procesele anaerobe

Din procesele anaerobe fac parte fermentația alcoolică, lactică, propionică, butirică și fermentația substanțelor pectice.

Fermentația alcoolică. Excitanții ei sînt levurile (drojdiile) ascomicete de genul *Saccharomyces* (zaharomicete), unele bacterii și unii reprezentanți ai ciupercilor miceliale. Excitanții de bază sînt zaharomicetele (fig. 14).

Zaharomicetele sînt anaerobe facultative. În condiții aerobe levurile capătă energie în urma oxidării totale a mono- și dizaharidelor pînă la CO_2 și H_2O, adică prin respirație aerobă. Acest proces stă la baza producerii drojdiilor de pîine și a celor de furaj, unde e necesar ca tot zahărul să fie utilizat pentru reproducerea drojdiilor, ceea ce duce la acumularea simțitoare a masei biologice.

În condiții anaerobe levurile capătă energia necesară în urma fermentației mono- și dizaharidelor conform ecuației sumare:



$$\underset{\text{Glucoză}}{C_6H_{12}O_6} \rightarrow \underset{\text{Alcool etilic}}{2CH_3CH_2OH} + 2CO_2 + 118\ \text{kJ}$$

Ca și orice altă fermentație, acest proces e complicat, cu multe etape și decurge cu participarea unui complex de enzime diverse, ce le conțin levurile. Fiecare etapă e catalizată de o anumită enzimă.

Odată cu produsele de bază ale fermentației se formează și cantități neînsemnate de produse secundare: glicerină, aldehidă acetică, acidul acetic și cel succinic, ulei de fuzel (amestec de alcooli superiori).

Condițiile fermentării alcoolice. Asupra dezvoltării levurilor și a procesului fermentației acționează mulți factori: conținutul mediului, cantitatea spirtului, temperatura, pH-ul, rasa levurilor.

Majoritatea levurilor au capacitatea de a fermenta monozaharidele (glucoza, fructoza) și dizaharidele (zaharoza, maltoza), unele levuri pot fermenta și pentozele (xiloza, arabinoza). Levurile nu pot fermenta amidonul, deoarece le lipsesc enzimele amilolitice. Iată de ce materia primă a industriei fermentative cu conținut mare de amidon este mai întîi supusă zaharificării (hidrolizei par-

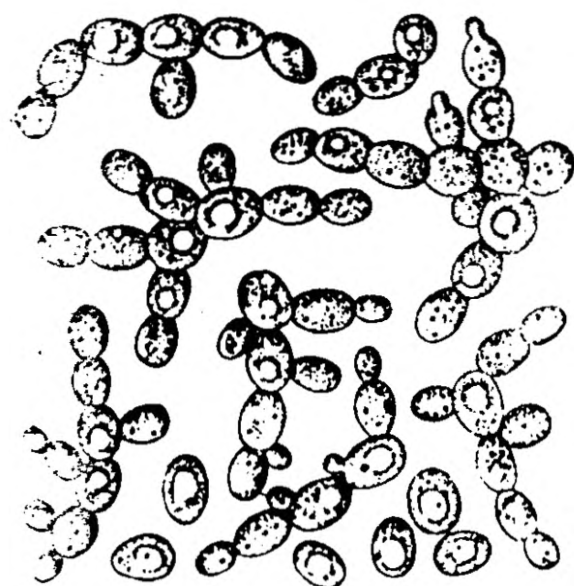


Fig. 14. Levurile genului *Saccharomyces* — excitanți ai fermentației alcoolice

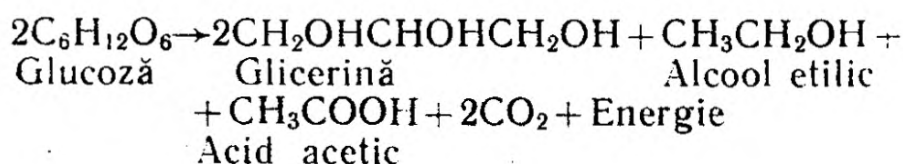
țiale) cu participarea amilazei de origine diversă. Cea mai potrivită pentru majoritatea levurilor este concentrația zahărului de 10—15%. În calitate de sursă de azot pentru levuri cele mai potrivite sînt sărurile amoniacale ale acizilor organici, dar pot servi și aminoacizii.

Alcoolul etilic, care se acumulează în mediu, acționează nefavorabil asupra levurilor. Raportul diferitelor levuri față de spirt e divers. Concentrația de 2—5 vol % are o acțiune deprimantă, fermentația încetează în majoritatea cazurilor la 12—14 vol %. Există și levuri alcoolorezistente, ele suportă cantitatea de spirt pînă la 18 vol %.

În dependență de raportul zaharomicetelor față de temperatură ele se împart în levuri de suprafață și levuri de fund. Levurile de suprafață, sau ale fermentației superioare, provoacă o fermentație rapidă și violentă la temperatura de 20—28°C. În timpul fermentației levurile se ridică la suprafață sub influența dioxidului de carbon, care se degajă. După terminarea fermentației levurile sedimentează la fundul vasului, formînd un precipitat poros

Levurile de fund, sau ale fermentației de fund, provoacă o fermentație liniștită, lentă, mai ales la temperatura de 5—10°C. Gazul se evaporă treptat, se formează puțină spumă, levurile sedimentează, formînd un precipitat compact.

Fermentarea alcoolică are loc în mediu acid cu pH-ul 4—4,5. În urma alcalinizării mediului pînă la pH-ul 8 sau introducerii sulfitului de natriu în mediu levurile formează, în calitate de produs principal al fermentației, glicerină (pînă la 40% din cantitatea zahărului fermentat), și nu spirt. Iată forma glicerinică a fermentației alcoolice:



$$\underset{\text{Glucoză}}{2C_6H_{12}O_6} \rightarrow \underset{\text{Glicerină}}{2CH_2OHCHOHCH_2OH} + \underset{\text{Alcool etilic}}{CH_3CH_2OH} +$$
$$+ \underset{\text{Acid acetic}}{CH_3COOH} + 2CO_2 + \text{Energie}$$

Întrebuințarea practică a fermentări alcoolice. Un șir de ramuri ale industriei alimentare se bazează pe activitatea vitală a zaharomicetelor, care provoacă fermentarea alcoolică. Ea stă la baza producerii alcoolului etilic, berii, vinului, cît și a coacerii pîinii. Împreună cu fermentarea lactică ea e folosită la producerea cvasului, chefirului, cumîsului. Levurile folosite la diferite procese posedă calități specifice. Mai mult decît atît, în una și aceeași ramură de producere pot fi folosite varietăți ale uneia și aceleași specii de levuri, care se deosebesc prin una sau cîteva particularități. Așa culturi poartă denumirea de rasă (tulpină). Ele se obțin, de regulă, dintr-o singură celulă. Fiecare ramură de producere dispune de cîteva rase, cu anumite particularități. Principalii «consumatori» ai spirtului sînt industria alimentară, medicinală și chimică. Cercetările efectuate au demonstrat că spirtul poate fi folosit și ca sursă de carbon la producerea biomasei de microorganisme, în special al levurilor. În afară de aceasta, în unele țări se fac cercetări în vederea folosirii spirtului în calitate de combustibil pentru transport.

Ca materie primă pentru producerea alcoolului etilic alimentar servesc glucidele de origine vegetală (cartofii, cerealele, sfecla de zahăr) și deșeurile producerii de prelucrare a sfeclei de zahăr (melasa). Pentru producerea spirtului tehnic sînt folosite deșeurile industriei de celuloză și hîrtie (leșie sulfitată), hidrolizați ai lemnului și diferite deșeuri din gospodăria sătească.

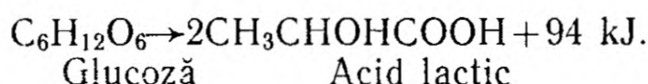
Producerea spirtului include următoarele stadii de bază: pregătirea materiei prime pentru fermentație; fermentația mustului; distilarea spirtului din bragă și purificarea lui. Fiecare stadiu are particularitățile sale tehnologice, determinate de materia primă folosită.

Un produs al fermentării alcoolice este și vinul. Ca materie primă servește mustul de struguri, sulfitat (prelucrat cu SO_2) cu scopul de a copleși dezvoltarea microorganismelor străine, apoi are loc fermentarea. Procesele producerii vinului vor fi descrise mai jos, în capitolele microbiologiei speciale.

Fermentarea lactică. E provocată de bacteriile lactice, pentru care fermentarea lactică este unica sursă de energie. Fermentarea lactică este procesul transformării glucidelor în acid lactic.

Bacteriile lactice se împart în două grupuri: homofermentative și heterofermentative, care provoacă respectiv fermentarea lactică homofermentativă sau heterofermentativă. La baza acestor grupuri stau produsele diverse, care se formează, ceea ce se explică prin asortimentul de enzime al bacteriilor lactice.

Bacteriile lactice homofermentative formează din zahăr numai acid lactic:



$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CHOHCOOH + 94\ kJ.$$

Glucoză Acid lactic

Bacteriile lactice heterofermentative, datorită fermenților diverși proprii, din zahăr, în afară de acid lactic, mai produc și alți compuși (acid acetic, alcool etilic, dioxid de carbon, unele specii mai

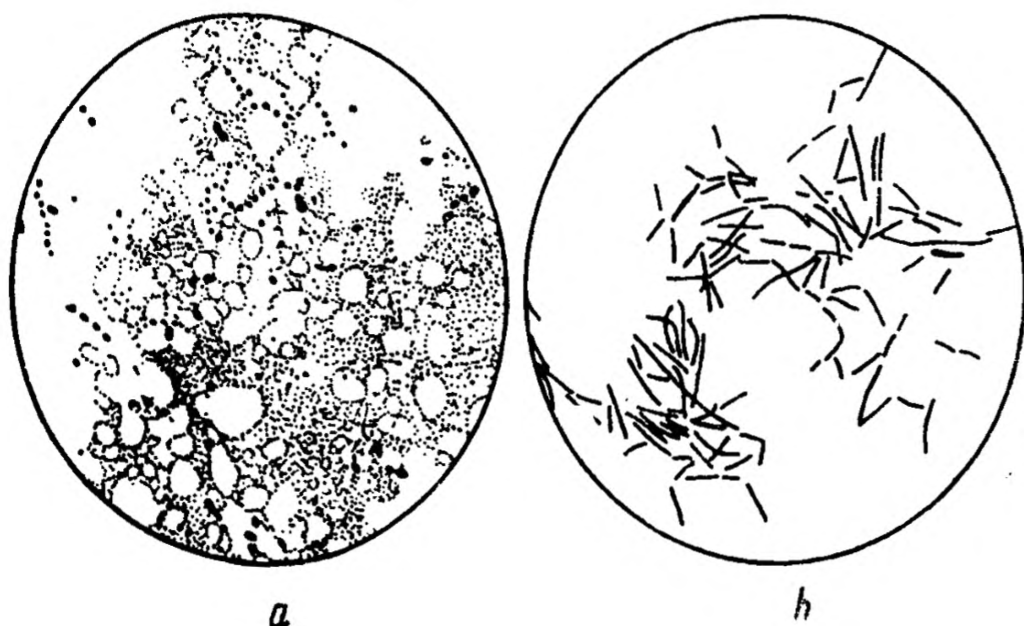
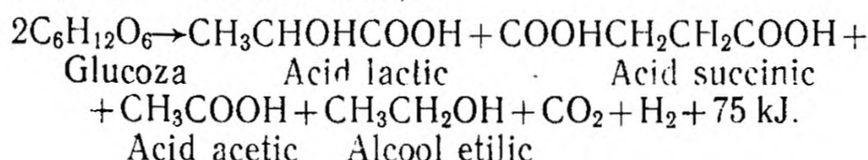


Fig. 15. Bacteriile lactice:
a — genul Streptococcus (sferice); b — genul Lactobacillus (bastonaşe).

produc acid succinic şi hidrogen). Printre bacteriile lactice se întîlnesc şi producători ai substanţelor aromatice, ce sintetizează diacetil şi acetoină. Cantitatea produselor fermentării lactice heterofermentative, care se acumulează în mediu, diferă în dependenţă de specia microorganismelor, de mediul nutritiv şi de condiţiile externe. Procesul fermentării lactice heterofermentative poate fi reprezentat schematic prin următoarea ecuaţie:



$$\underset{\text{Glucoza}}{2C_6H_{12}O_6} \rightarrow \underset{\text{Acid lactic}}{CH_3CHOHCOOH} + \underset{\text{Acid succinic}}{COOHCH_2CH_2COOH} +$$
$$+ \underset{\text{Acid acetic}}{CH_3COOH} + \underset{\text{Alcool etilic}}{CH_3CH_2OH} + CO_2 + H_2 + 75\ \text{kJ}.$$

Bacteriile lactice fac parte din genul *Streptococcus* (au formă sferică sau puţin ovală şi formează lanţuri) şi *Lactobacillus* (celulele sînt imobile, nu formează spori, au formă de bastonaşe lungi sau scurte, izolate sau unite în lanţ (fig. 15).

Toate bacteriile lactice sînt grampozitive, în special anaerobe facultative. Printre ele sînt şi microaerofile.

Bacteriile lactice se deosebesc de alte microorganisme prin exigenţa lor faţă de compoziţia mediului nutritiv, ele necesită întregul asortiment al aminoacizilor gata, vitaminele grupului B, de componenţi ai acizilor nucleici.

Exigenţa înaltă faţă de mediul nutritiv determină răspîndirea bacteriilor lactice în natură. Ele aproape că nu se întîlnesc în sol şi în bazinele cu apă, ci trăiesc pe plante, fructe, legume, în lapte şi în produsele lactate, împreună cu care nimeresc în tubul digestiv şi îl populează intens, în locurile de descompunere a deşeurilor vegetale. Ca sursă de carbon folosesc l a c t o z a şi m a l t o z a.

Bacteriile lactice formează cantităţi de acid — de la 1 pînă la 3,5%, datorită cărui fapt se pot dezvolta în mediul cu pH aproape de 4. Graţie capacităţii de a acidula mediul, ele sînt folosite la copleşirea bacteriilor de putrefacţie (în timpul murării verzei, castraveţilor, merelor etc.), care preferă medii neutre sau uşor alcaline.

În lumea bacteriilor lactice se întîlnesc mezofili, ce se dezvoltă la temperaturi medii (aproape de 30°C), şi termofili, ce se dezvoltă la temperaturi ridicate (40—50°C).

Întrebuinţarea practică a fermentării lactice. Ea se aplică pe larg la prepararea produselor lactate acide, a untului, margarinei, la coacerea pîinii, la murarea legumelor, însilozarea furajelor şi la producerea acidului lactic.

La producerea multor produse lactate acide, inclusiv a brînzei, se folosesc bacteriile lactice homofermentative mezofile şi termofile, culturile selecţionate ale cărora sînt introduse în laptele pasteurizat.

Bacteriile lactice, împreună cu cele propionice, iau parte la procesul de maturizare a brînzei. Streptococii mezofili lactici şi de cremă (*S. lactis* şi *S. cremoris*) intră în componenţa plămadei smîntînei, brînzei, a untului de frişcă şi a margarinei, iar pentru a le da aromă sînt folosite speciile producătoare de aromate (streptococi heterofermentativi *S. diacetilactis*).

Bacteriile lactice heterofermentative *L. brevis* împreună cu bacteriile homofermentative *L. Plantarum* în simbioză cu drojdiile joacă rolul principal la producerea pîinii de secară. Ele înfoaie aluatul, îi dau o aromă specifică şi un gust acriu. Bacteriile lactice homofermentative termofile se folosesc la prepararea drojdiilor lichide pentru coacerea pîinii (*L. delbrueckii*).

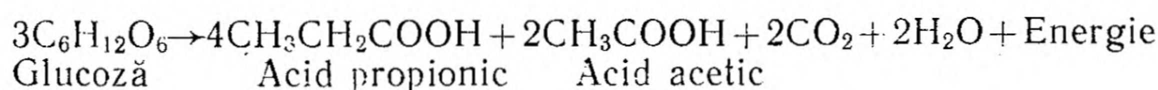
Murarea legumelor şi însilozarea nutreţului se reduce în fond la fermentarea lactică a acestor substraturi cu ajutorul mezofiliilor homofermentativi *L. plantarum*.

Bacteriile lactice homofermentative (*L. delbrueckii şi S. lactis*) sînt folosite la producerea acidului lactic, ce are o largă întrebuinţare în industria de conserve şi de cofetărie, la pregătirea băuturilor fără alcool, în medicină. Unele dintre ele produc antibioticul nizina.

Multe bacterii heterofermentative mezofile bacilare şi leiconostocul sînt dăunătoare în producerea spirtului, berii, vinului, băuturilor fără alcool, zahărului etc.

Fermentarea propionică. E provocată de bacteriile propionice, ce fac parte din genul *Propionibacterium*.

Unica sursă de energie pentru ele e procesul de fermentare al diferitelor substanţe: monozaharide (hexoze şi pentoze), acizi lactic şi malic, glicerină etc., care se transformă în acizi propionic şi acetic, dioxid de carbon şi apă:

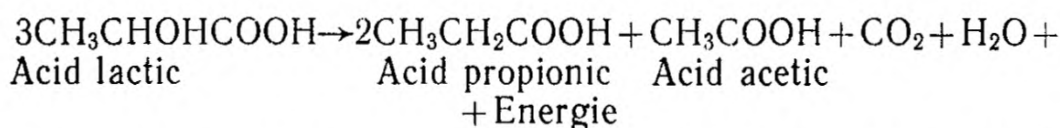


$$3C_6H_{12}O_6 \rightarrow 4CH_3CH_2COOH + 2CH_3COOH + 2CO_2 + 2H_2O + \text{Energie}$$

Glucoză Acid propionic Acid acetic



Fig. 16. Bacteriile propionice



$$3CH_3CHOHCOOH \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + CH_3COOH + CO_2 + H_2O + \text{Energie}$$

Acid lactic — Acid propionic — Acid acetic

Bacteriile propionice posedă multe proprietăţi înrudite cu ale bacteriilor lactice şi deseori ele se dezvoltă împreună.

Bacteriile propionice sînt în formă de bastonaşe mici, puţin încovoiate, asporogene, grampozitive, anaerobi facultativi. (fig. 16). Ele, ca şi bacteriile lactice, lipsesc în sol şi în bazinele cu apă. Populează în special tubul digestiv al animalelor rumegătoare şi laptele.

Întrebuinţarea practică a fermentării propionice. Se întrebuinţează în industia brînzeturilor. Ele formează acizi volatili — acetic şi propionic, datorită cărora brînza capătă un gust acriu picant, iar în urma degajării dioxidului de carbon în brînză se formează ochiuri.

Bacteriile lactice au capacitatea de a sintetiza vitamina B_{12}, ceea ce se întrebuinţează la producerea vitaminei B_{12} din deşeurile industriale (zer etc.), adăugînd extract de porumb ca sursă de vitamine.

Fermentarea butirică. Spre deosebire de fermentările descrise mai sus, excitatorii acestei fermentări sînt anaerobi obligatorii din genul *Ciostridium*. Pentru ei oxigenul e otravă.

Unica sursă de energie pentru ei e procesul de fermentare. Ecuaţia sumară a fermentării butirice e următoarea:



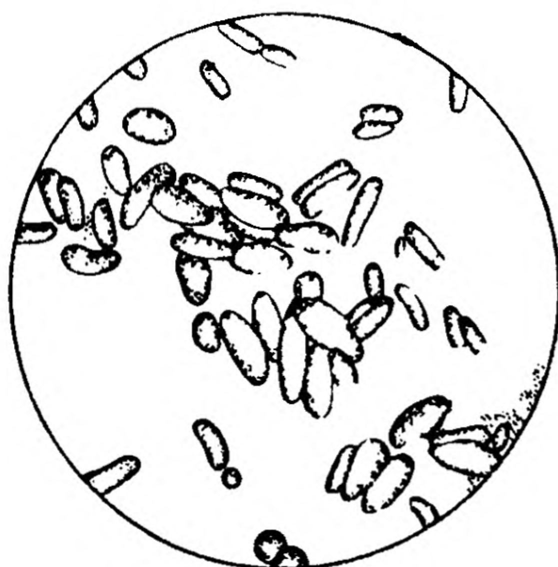
$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2 + 63 \text{ kJ}.$$

Glucoză — Acid butiric

Excitatorul tipic al fermentării butirice este *Clostridium butyricum*. Unii reprezentanţi ai bacteriilor butirice provoacă cîteva varietăţi ale fermentării butirice, indiciul comun al cărora e acumularea în cantităţi mai mari sau mai mici a acidului butiric, acetic şi a altor acizi organici, cît şi a alcoolilor, inclusiv a celui butiric, acetonei şi a altor produse gazoase (hidrogen, metan, dioxid de carbon).

Fermentării sînt supuse glucidele, inclusiv polizaharidele (amidonul, amiloza, granuloza, glicogenul, substanţele pectice, celulo-

Fig. 17. Bacteriile butirice



za etc.), deoarece bacterile butirice conţin enzimele corespunzătoare (amilază, pectinază, celuloză), care hidrolizează aceşti compuşi pînă la zăharuri simple. Cele din urmă, la rîndul lor, sînt supuse fermentării butirice. Bacteriile butirice fermentează şi alcoolii (etilic, manita, glicerina) şi aminoacizii (glutaminic etc.). Foarte apropiate de bacteriile butirice sînt formele patogene — excitanţii botulismului şi ai tetanosului.

După caracterul substratului folosit de bacteriile butirice ele pot fi împărţite în două grupuri: clostridii zaharolitici, ce fermentează în fond glucidele, şi clostridii proteolitici, ce conţin fermenţi activi şi descompun proteinele şi peptonele pînă la aminoacizi, care sînt supuşi fermentării.

Bacteriile butirice sînt destul de măşcate, grampozitive, sînt bacili mobili periflagelaţi, ce formează spori foarte rezistenţi, în urma cărui fapt celula primeşte forma fusului (clostridiu) sau a rachetei de tenis (fig. 17). Pînă la formarea sporilor celulele acumulează substanţa de rezervă, asemănătoare cu amidonul — granuloza.

Bacteriile butirice sînt răspîndite larg în natură. Ele locuiesc acolo unde sînt multe substanţe organice şi lipseşte oxigenul: în mîlul bazinelor cu apă, în băligar, sol, în îngrămădirile de deşeuri în putrefacţie, în lichidele de scurgere etc. Dezvoltarea lor în sol e posibilă numai datorită simbiozei cu bacteriile aerobe, care consumă oxigenul, creînd condiţii favorabile (anaerobe) pentru dezvoltarea bacteriilor butirice. Răspîndirea largă a lor se datorează rezistenţei înalte a sporilor.

Întrebuinţarea practică a fermentării butirice. În natură bacteriile butirice joacă rolul principal în circuitul carbonului. Acidul butiric e un produs răspîndit în natură, care se capătă în urma descompunerii anaerobe a diferitelor substanţe organice.

Fermentarea butirică şi-a găsit o întrebuinţare largă în industria de preparare a acidului butiric, ce are un miros pătrunzător de ulei rînced. Totodată eterii lui au o aromă plăcută, spre exemplu eterul

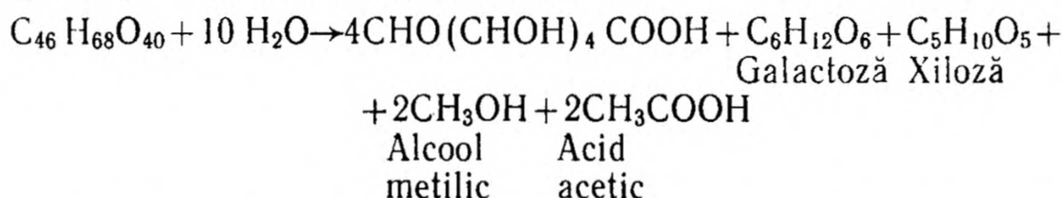
metilic are miros de mere, cel etilic — de pere, anilic — de ananas. Ei se întrebuinţează în industria de cofetărie şi a parfumurilor, la producerea băuturilor de fructe nealcoolizate.

Bacteriile butirice pot provoca alterarea în masă a cartofilor şi legumelor, înfoierea brînzei, alterarea conservelor (bombajul), rîncezirea laptelui şi a făinei umede, cît şi a altor produse. Ele provoacă alterarea murăturilor în cazul fermentării lactice lente şi fac ca produsul să capete un gust picant iute şi un miros pătrunzător, neplăcut.

In ramurile industriei, legate de activitatea levurilor, bacteriile butirice sînt dăunătoare — acidul butiric intoxică levurile. Lupta împotriva bacteriilor butirice e foarte dificilă din cauza rezistenţei înalte a sporilor lor.

Fermentarea substanţelor pectice. Substanţele pectice se întîlnesc în plante, mai ales în fructe, pomuşoare, rădăcinoase. Datorită lor celulele vegetale sînt strîns lipite între ele. Substanţele pectice sînt compuşi macromoleculari (polizaharide), de aceea pentru a putea pătrunde în celulă ele în prealabil sînt supuse hidrolizei fermentative.

Hidroliza în trepte a substanţelor pectice are loc sub influenţa enzimelor microorganismelor, care se dezvoltă în materia primă vegetală şi în produsele căpătate din ea:



$$C_{46}H_{68}O_{40} + 10\,H_2O \rightarrow 4CHO(CHOH)_4COOH + \underset{\text{Galactoză}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Xiloză}}{C_5H_{10}O_5} + \underset{\text{Alcool metilic}}{2CH_3OH} + \underset{\text{Acid acetic}}{2CH_3COOH}$$

In urma hidrolizei fermentative microorganismele nu capătă energie. In condiţii anaerobe ele capătă energie ca rezultat al fermentării butirice, căreia îi sînt supuse produsele hidrolizei fermentative arabinoza şi galactoza, în condiţii aerobe ele se oxidează pînă la CO_2 şi H_2O. Fermentarea are loc în prezenţa anumitor specii de bacterii butirice. Produsele fermentării sînt acizii butiric şi acetic, cît şi gazele (H_2 şi CO_2). Descompunerea substanţelor pectice provoacă alterarea produselor. Spre exemplu, castraveţii muraţi se înmoaie sau în ei apar goluri în urma maceraţiei (descompunerea în celule răzleţe) ţesuturilor castraveţilor în timpul descompunerii fermentative.

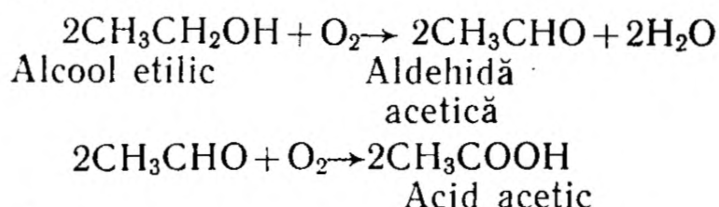
§ 2. Procesele aerobe

Ele au loc cu ajutorul chemoheterotrofilor în prezenţa oxigenului molecular, dar, spre deosebire de respiraţia aerobă (oxidare deplină), sînt procese de oxidare parţială. Deseori sînt numite greşit «fermentări de oxidare», deoarece «fermentare» înseamnă transformare de oxidoreducere a substratului sub influenţa microorganismelor în condiţii strict anaerobe.

Oxidarea alcoolului etilic de către bacteriile acetice. Acest proces era cunoscut din timpurile cele mai străvechi: dacă vinul sau berea

rămîn în vas la aer, peste un timp oarecare se tulbură, iar la suprafaţă apare o peliculă compactă. Astfel vinul sau berea se înăcresc şi se transformă în oţet.

Oxidarea alcoolului etilic de către bacteriile acetice are loc în două etape — mai întîi se formează aldehida acetică, care mai apoi se oxidează în acid acetic:



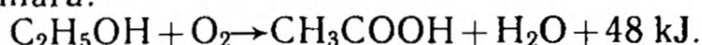
$$2CH_3CH_2OH + O_2 \rightarrow 2CH_3CHO + 2H_2O$$

Alcool etilic — Aldehidă acetică

$$2CH_3CHO + O_2 \rightarrow 2CH_3COOH$$

Acid acetic

Ecuaţia sumară:



$$C_2H_5OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O + 48\ kJ.$$

Bacteriile acetice sînt aerobi obligatorii. Ele oxidează nu numai alcoolul etilic monoatomar, dar şi alcoolii poliatomari. Spre exemplu, alcoolul hexaatomar sorbita e oxidată pînă la glucida sorboza, care serveşte ca materie primă la sinteza chimică a acidului ascorbic. Unele bacterii acetice oxidează alcoolul triatomar glicerina în dioxiacetonă, necesară în industria chimică; ele pot oxida şi glucoza în acid gluconic, folosit pe larg în farmaceutică şi medicină, cît şi pentru alimentarea copiilor. Procesele de oxidare a acestor compuşi sînt unicele surse de energie pentru bacteriile acetice.

Unele bacterii acetice pot provoca supraoxidarea, adică oxidarea completă, cînd acidul acetic, format din spirt, se transformă în CO_2 şi H_2O. Acest proces e foarte periculos în industria producerii oţetului.

Bacteriile acetice sînt în fond bastonaşe scurte, mobile, răzleţe, perechi sau în lanţ, nu formează endospori, sînt gramnegative (fig. 18). Ele se referă la două genuri — *Gluconobacter* şi *Acetobacter*. Primele reprezintă nişte bastonaşe cu un mănunchi de flagele (lofoflagelate), oxidează glucoza în acid gluconic, au capacitatea nu prea mare de a oxida alcoolul etilic în acid acetic, nefiind capabile de a oxida în continuare acidul acetic. Bacteriile genului *Acetobacter* sînt bastonaşe acoperite cu flagele pe toată suprafaţa (periflagelate), incapabile de a oxida glucoza, în schimb oxidează energic alcoolul etilic în acid acetic, oxidîndu-l în continuare în CO_2 şi H_2O.

Bacteriile acetice se deosebesc după dimensiunile celulelor, multe dintre ele formează la suprafaţa mediului pelicule subţiri fragile sau groase cartilaginoase. Peliculele se formează datorită capsulei (substanţei lipicioase de pe suprafaţa celulelor). În condiţii nefavorabile bacteriile capătă o formă neobişnuită — apar nişte celule umflate, caraghioase, nişte aţe lungi, groase etc. Bacteriile acetice se deosebesc prin rezistenţa lor faţă de spirt şi prin capacitatea de a acapara diferite cantităţi de acid acetic (de la 4,5% pînă la 9—11%). Temperatura optimă de dezvoltare e de aproximativ 30°C. Sînt acidorezistente, se pot dezvolta la pH-ul aproximativ egal cu 3, valoarea optimă a pH-ului 5,4—6,3.

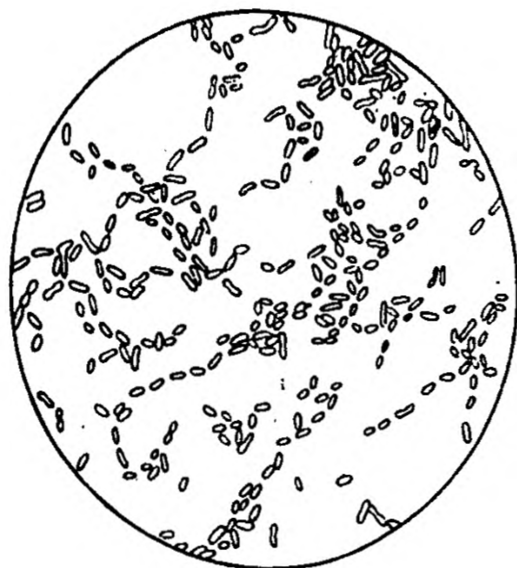


Fig. 18. Bacteriile acetice

Bacteriile acetice sînt larg răspîndite în natură, locuiesc în flori, pe fructe, pomușoare și legume coapte, se întîlnesc în mugurii din livezi, în sucurile de fructe înăcrite, în bere, vin și legume murate.

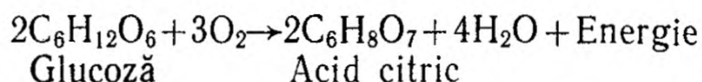
Întrebuințarea practică a bacteriilor acetice. Se întrebuințează la prepararea industrială a oțetului de vin natural. Cultura de producere a oțetului e *Actobacter aceti*. Producerea oțetului se bazează pe oxidarea spirtului de către bacteriile acetice.

Bacteriile acetice în industria alimentară de obicei joacă un rol negativ. Ele sînt vătămători ai industriei spirtului, berei, levurilor în producerea conservelor, în vinificare, în producerea băuturilor nealcoolizate etc.

Oxidarea glucidelor de către ciupercile miceliale. Oxidarea parțială a glucidelor cu oxigen molecular cu formarea acizilor organici (citric, formic etc.) poate fi provocată și de ciupercile miceliale, care, ca și bacteriile acetice, sînt aerobi obligatorii.

O deosebită însemnătate practică are procesul producerii acidului citric, care mai înainte era căpătat din lămîi, iar în prezent se prepară cu ajutorul ciupercii *Aspergillus niger*. Fiziologia ciupercilor și chimismul procesului au fost studiate detailat de către S. P. Costîcev și V. S. Butkevici, datorită cărui fapt în anul 1930 la Leningrad a fost organizată prima fabrică de producere a acidului citric. Procesul are loc cu prezența obligatorie a oxigenului.

La baza procesului stă oxidarea zaharurilor din materia primă (melasa) în acid citric:

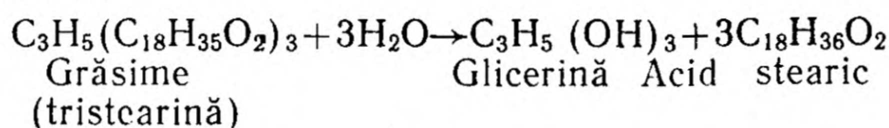


$$\underset{\text{Glucoză}}{2C_6H_{12}O_6} + 3O_2 \rightarrow \underset{\text{Acid citric}}{2C_6H_8O_7} + 4H_2O + \text{Energie}$$

Acidul citric are o întrebuințare largă în industria de cofetărie și de conserve, la producerea băuturilor nealcoolizate, în medicină ca conservant al sîngelui.

Oxidarea grăsimilor și a acizilor grași superiori. Grăsimile rep-

rezintă nişte eteri compuşi macromoleculari şi nu pot nimeri în interiorul celulei fără a suferi unele transformări. De aceea mai întîi are loc hidroliza grăsimilor cu participarea enzimei lipaza, ce se conţine în microorganismele. Ca urmare se formează glicerina şi acizii graşi superiori:



$$C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_3+3H_2O \rightarrow C_3H_5(OH)_3+3C_{18}H_{36}O_2$$

Grăsime (tristearină) — Glicerină — Acid stearic

Acest proces nu asigură microorganismele cu energie. Produsele formate în urma hidrolizei (glicerina şi acizii graşi superiori) sînt folosite de unele microorganisme în calitate de material energetic. Glicerina e uşor supusă oxidării, spre exemplu cu ajutorul bacteriilor acetice, care o oxidează pînă la dioxiacetonă. Ciupercile miceliale oxidează glicerina în CO_2 şi H_2O. Bacteriile butirice o fermentează în acid butiric. În urma acestor procese microorganismele capătă energie.

Acizii graşi superiori se oxidează mult mai greu şi mai lent. La început ei se acumulează în substrat şi, mai apoi, se oxidează treptat în CO_2 şi H_2O. În urma acestui proces se degajă multă energie.



$$C_{18}H_{36}O_2+26O_2 \rightarrow 18CO_2+18H_2O+\text{Energie}$$

În procesul oxidării acizilor graşi superiori se formează un şir de produse intermediare (cetone, aldehide, hidroxiacizi etc.), datorită cărora grăsimile oxidate capătă un miros neplăcut şi un gust rînceziu.

La descompunerea grăsimilor participă activ unele bacterii din genul *Pseudomonas*. Ele sînt mobile (monoflagele), nu formează spori, sînt bastonaşe aerobe gramnegative; unele dintre ele elimină în mediu un pigment verzui; unele sînt psihrofili, se dezvoltă la temperaturi joase (0°C). La descompunerea grăsimilor participă şi alte bacterii aerobe, cît şi ciupercile miceliale (unele specii ale aspergililor, penicililor, mucegaiul laptelui).

În industria alimentară microorganismele care oxidează grăsimile duc la alterarea grăsimilor alimentare şi grăsimilor din produse (din peşte, lapte, crupe, din conserve etc.). Alterarea grăsimilor care se păstrează în frigidere e provocată de psihrofili.

Descompunerea grăsimilor animalelor (pierite) şi plantelor în condiţii naturale (în apă, sol) se petrece în permanenţă şi are o importanţă mare în circuitul carbonului.

§ 3. Transformările substanţelor organice ce conţin azot

Putrefacţia este un proces de descompunere adîncă a substanţelor proteice de către microorganisme. Unul din produsele finale ale descompunerii proteinelor este amoniacul (NH_3), de aceea procesul de putrefacţie se mai numeşte şi a m o n i f i c a r e a substanţelor proteice, iar bacteriile — d e p u t r e f a c ţ i e sau a m o n i f i c a-

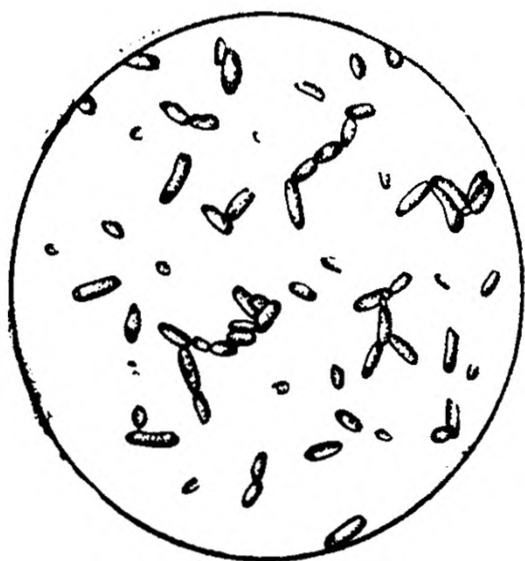


Fig. 19. *Bacillus subtilis* (bacilul de fîn)

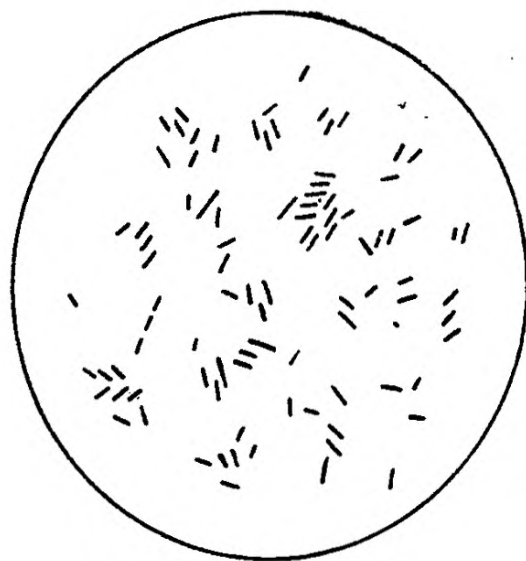


Fig. 20. *Pseudomonas fluorescens* (bastonaşe pigmentate)

toare. Proteinele sînt substanţe macromoleculare, care nu pot pătrunde în celula bacterială fără a suferi schimbări.

Mai întîi proteinele sînt supuse dezintegrării în afara celulei sub influenţa eczofermenţilor proteolitici ai microorganismelor. Descompunerea proteinelor are loc pe trepte:

Proteine→Peptone→Polipeptide→Aminoacizi

Transformările de mai departe ale aminoacizilor sînt diverse. Ele se difuzează în interiorul celulei şi pot fi folosite de către microorganisme fie în metabolismul constructiv la biosinteza proteinelor în celule ca sursă a carbonului şi a azotului, fie că sînt supuşi dezaminării sau decarboxilării.

Dezaminarea aminoacizilor duce la scindarea grupului amoniacal, din care se formează amoniacul, şi la acumularea acizilor organici graşi (butiric, acetic, propionic, formic etc. şi a cetoacizilor), cît şi a alcoolilor macromoleculari. Produsele intermediare ale scindării aminoacizilor suferă diferite transformări, în dependenţă de specia bacteriilor şi de condiţiile în care decurg procesele de putrefacţie.

Microorganismele aerobe provoacă oxidarea deplină a lor pînă la substanţe minerale, iar produsele finale (în afară de amoniac) sînt dioxidul de carbon (tot carbonul substanţelor proteice se elimină în formă de CO_2), apa, hidrogenul sulfurat şi uneori mercaptanele, care au miros de ou clocit. Hidrogenul sulfurat şi mercaptanele se formează din aminoacizi ce conţin sulf (cistina, cisteina, metinonina).

În urma putrefacţiei nucleoproteidelor se formează săruri ale acidului fosforic.

În condiţii anaerobe nu poate avea loc oxidarea deplină a produselor intermediare de dezintegrare a aminoacizilor şi ele se acumu-

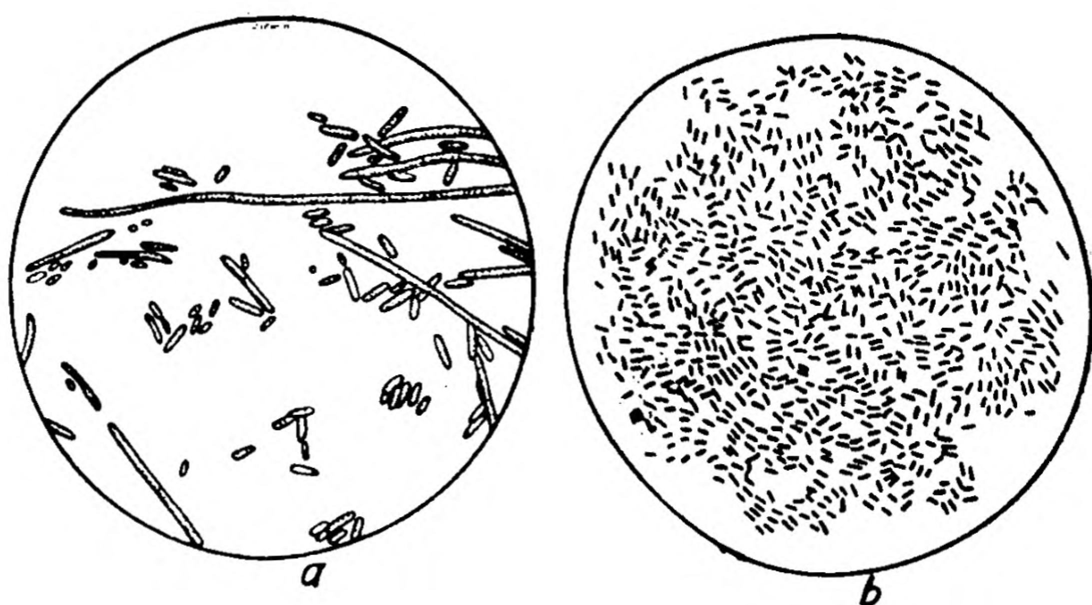


Fig. 21. a — *Proteus vulgaris;* b — *Escherichia coli* (colibacil)

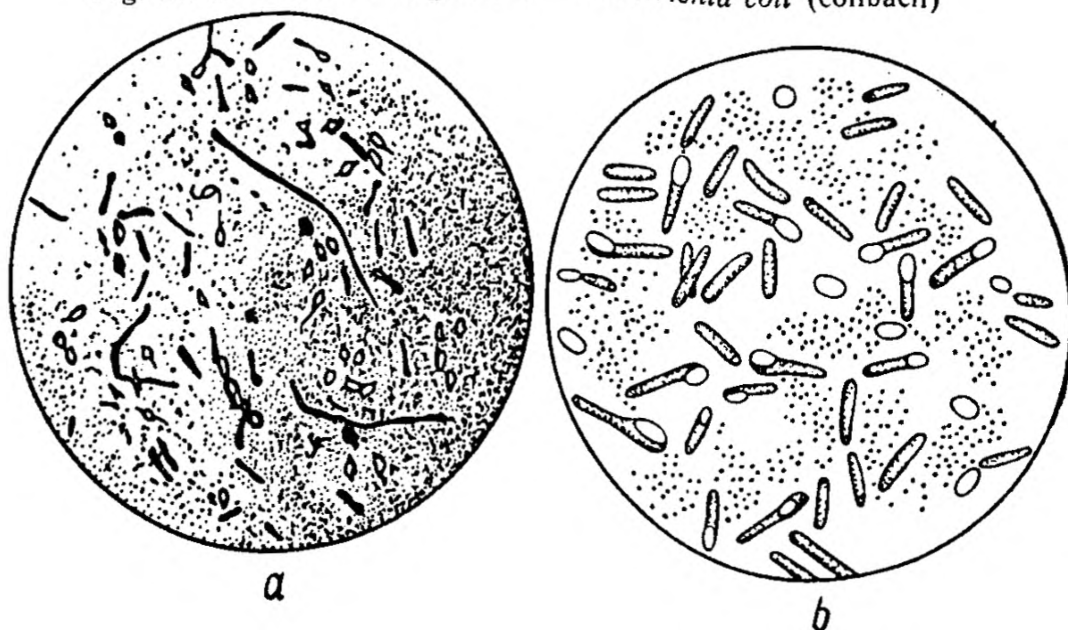


Fig. 22. a. — *Clostridium putrificum;* b — *Clostridium sporogenes*

lează în mediu. În aceste condiții mai are loc și decarboxilarea aminoacizilor (descompunerea cu degajarea CO_2). În rezultat se formează substanțe cu miros neplăcut: indol, scatol, fenol, crezol; indolul și scatolul se formează de obicei din triptofan. În urma decarboxilării aminoacizilor se formează diamine; derivații lor sînt ptomaine, care au acțiune toxică.

Stimulatorii putrefacției, de regulă, sînt bacteriile. La bacteriile de putrefacție aerobe se referă bacilii sporogeni *Bacillus subtilis* (bacilul de fîn) (fig. 19), *V. mycoides* (bacilul de sol) și *V. megaterium.*

Amonificatori aerobi sînt bastonașele pigmentate *Pseudomonas fluorescens* (fig. 20), care posedă nu numai enzime proteolitice, ci

şi de lipază. Ele sînt psihrofile, provoacă alterarea produselor ce conţin proteine şi grăsimi în timpul păstrării în instalaţiile frigorifere.

La aminoficatoarele anaerobe facultative se referă bastonaşele asporogene *Proteus vulgaris* (fig. 21).

Printre anaerobele obligatorii, provocatoare ale procesului de putrefacţie, sînt bastonaşele sporogene *Clostridium putrificum, C. sporogenes* (fig. 22).

Importanţa procesului de putrefacţie

Bacteriile de putrefacţie sînt vătămătorii multor produse alimentare cu calităţi nutritive înalte (carne şi produse de carne, peşte şi produse de peşte, lapte, ouă etc.).

În natură (apă, sol) bacteriile de putrefacţie descompun activ animalele moarte şi plantele, mineralizează substanţele proteice jucînd un rol colosal în circuitul carbonului şi azotului.

PARTEA II. MICROBIOLOGIA VINULUI

CAPITOLUL 1
MICROFLORA STRUGURILOR, FRUCTELOR, MUSTULUI ŞI A VINULUI

In procesul de vinificare un rol deosebit îl joacă microorganismele. Însă în dependenţă de condiţii şi tipul microorganismelor participarea lor la acest proces poate avea atît caracter pozitiv, cît şi negativ. Acum un secol Pasteur a demonstrat că transformarea mustului în vin se bazează pe procesul fermentaţiei alcoolice cu participarea anumitor microorganisme (levuri), care în condiţii de viaţă fără aer transformă zahărul în alcool şi dioxid de carbon. Alt tip de levuri pot provoca alterarea numită «floarea vinului». Un grup aparte de levuri sînt folosite la producerea vestitelor vinuri spaniole din regiunea Herez sau a celor din Iura — Franţa («vins jaunes»). Un şir de microorganisme este cauza îmbolnăvirii grave a vinului, mai ales bacteriile, dar tot ele în anumite condiţii determină din punct de vedere biologic formarea vinurilor roşii seci.

Strugurii la rîndul lor şi cei de pe butuc, şi cei culeşi, pot fi atacaţi de mucegai. Acesta din urmă se înmulţeşte şi pe lemnul butoaielor, dînd vinului păstrat în ele gust şi miros de mucegai. Şi doar la dezvoltarea unor feluri de mucegai (în anumiţi ani şi locuri) strugurii se stafidesc («putregaiul nobil»), obţinîndu-se renumitele vinuri dulci licoroase naturale (Sotern — Franţa, Tokay — Ungaria, Cotnari, Murfatlar — România).

§ 1. Levurile

Răspîndirea şi circuitul levurilor în natură. In activitatea sa vitală levurile trec trei cicluri de dezvoltare: natural, independent de acţiunea omului;

apropiat de cel natural, dar sub influenţa omului (fermentaţia are loc în prezenţa oxigenului, fără anhidridă sulfuroasă);

artificial, ciclu întrerupt de dezvoltare (fermentaţia e dirijată de om şi are loc în absenţa oxigenului).

Ciclul al doilea e răspîndit în ţările calde de sud, unde are loc fermentaţia deschisă. Al treilea ciclu e mai frecvent întîlnit în regiunile de nord, unde se practică fermentaţia închisă.

Levurile sînt larg răspîndite în natură. Mulţi cercetători erau preocupaţi de întrebarea, unde se află levurile în diferite anotimpuri ale anului şi cum nimeresc ele pe fructe şi, în special, pe struguri.

Încă în anul 1880 E. Ganzen a dovedit experimental că locul

de trai al levurilor în timpul verii şi toamnei în fond sînt fructele şi legumele dulci şi mustoase deteriorate. Ele se mai întîlnesc la suprafaţa solului şi în sol (la adîncimea de 20—30 cm) anul împrejur. Un număr mare de levuri se întîlnesc mai ales în perioada coacerii fructelor şi pomuşoarelor.

Toamna, după recoltare, levurile de pe frunze nimeresc în sol odată cu căderea lor, aflîndu-se acolo din toamnă pînă primăvara. Toamna numărul lor e mare, apoi treptat scade din cauza condiţiilor de existenţă nefavorabile (lipsa hranei, temperatura joasă). Astfel are loc selecţionarea naturală, în urma căreia supravieţuiesc cele mai puternice rase. De aceea pentru selecţionarea levurilor raselor locale cel mai bun este solul din vii luat primăvara (martie).

Primăvara levurile care au iernat în sol sînt scoase la suprafaţă de către insecte, apoi nimeresc pe florile melifere, unde începe reproducerea lor. De pe flori levurile trec pe fructe, unde reproducerea lor continuă. Cea mai mare cantitate de levuri se acumulează la începutul recoltării. Pe suprafaţa fructelor şi pomuşoarelor coapte în afară de levurile de vin se mai află şi alte specii de levuri sălbatice, bacterii acetice, cît şi spori ai ciupercilor de mucegai.

O cantitate însemnată de levuri se adună pe pereţii subsolurilor, a încăperilor de vinificare, a utilajului şi, mai ales, pe pereţii interni ai vaselor din lemn pentru vin. Levurile de pe pereţii subsolurilor şi încăperilor de vinificare în activitatea lor vitală folosesc substanţele gazoase. Pe pereţii reci ai încăperilor deseori are loc condensarea vaporilor de apă cu impurităţile de spirt, eteri, aldehide, amoniac, anhidridă sulfuroasă etc. care se elimină la fermentarea mustului şi în timpul pritocirii vinului.

În cele din urmă, un loc de trai al levurilor sînt animalele şi insectele (albinele, bondarii, viespile, muştele drosofile etc.). Musca oţetului (drosofila), datorită simţului olfactiv dezvoltat, apare imediat acolo, unde începe fermentaţia alcoolică şi este principalul purtător atît al bacteriilor acetice, cît şi al multor specii de levuri. Studiind flora levurilor din tubul digestiv al muştei oţetului, au fost evidenţiate treizeci de genuri şi rase de levuri.

Chestia cum anume nimeresc levurile pe bobiţele strugurilor îi preocupă pe mulţi cercetători. În prezent drept principali purtători ai levurilor pe bobiţe sînt considerate diferite insecte.

Pe bobiţele ce se află mai aproape de sol levurile nimeresc împreună cu particulele de praf si cu stropii de ploaie.

N. F. Saenco, studiind circuitul levurilor în condiţiile Crimeii de Sud, a constatat că solurile locale sînt nefavorabile pentru dezvoltarea lor, mai ales în lunile de vară, din cauza căldurilor mari, acţiunii luminii, alternării ploilor şi uscăciunilor, care au o influenţă distrugătoare asupra acestora. Ea a stabilit că tufele viţei-de-vie şi aerul Crimeii de Sud sînt foarte sărace în levuri şi, mai ales, în levuri de vin, iar pe flori şi bobiţe n-a găsit levuri în genere.

Astfel, în condiţiile Crimeii de Sud locul principal de trai al le-

vurilor este canalul digestiv al insectelor, în special al muştei drosofila, solul fiind locul lor de trai temporar.

Etapele de dezvoltare a levurilor. Dezvoltarea levurilor decurge in cîteva etape. Prima — reproducerea, în procesul căreia sporeşte esenţial masa biologică. La început se simte o reţinere a reproducerii, aşa-numita fază de latenţă sau lag, cînd înmugurirea nu se observă şi are loc adaptarea la mediul ambiant. Apoi începe faza de multiplicare exponenţială (logaritmică), ce se caracterizează prin creşterea în progresie geometrică a numărului de celule şi mărirea rezistenţei lor, după care urmează fermentaţia. În această etapă toate substanţele nutritive sînt folosite la formarea celulelor noi, celulele nu acumulează substanţe nutritive de rezervă.

Cînd cantitatea alcoolului atinge 6—8 vol % înmulţirea levurilor se întrerupe şi începe faza de înfometare. Ea are două faze: de autofermentare şi înfometarea propriu-zisă. La autofermentare activitatea vitală a levurilor continuă pe contul glucogenei rezervate — ea e transformată în zahăr, care în continuare e fermentat de levuri. Prin urmare, sporeşte cantitatea spirtului în mediu. După epuizarea rezervelor de glicogenă începe înfometarea propriu-zisă. Celulele se micşorează, conţinutul lor devenind granular.

Dacă levurile rămîn timp îndelungat sub formă de precipitat în prezenţa aerului, începe etapa de repaus (odihna). Membrana celulei devine compactă, sporeşte cantitatea substanţelor nutritive de rezervă, ceea ce îi permite celulei să-şi păstreze activitatea.

După înfometare pentru levuri începe etapa de pieire. Pentru celulele moarte e caracteristic faptul că plasma lor se desprinde de la membrană şi se adună în centru. Celulele devin şi mai mici, îşi încep activitatea enzimele proteolitice ale celulei, care descompun proteinele. Acest proces se numeşte autodigestie şi duce la autoliza (descompunerea) celulelor de levuri. Se ştie că autoliza levurilor în prezenţa apei are loc în fond pe baza descompunerii glucidelor, iar în prezenţa a 5—7 vol. % de spirt — pe baza descompunerii substanţelor proteice. Despre rolul autolizei va fi vorba în partea a treia a manualului.

Levurile de vin. Levurile de vin în vinificare se folosesc ca excitanţi ai fermentării alcoolice. Ele fac parte din familia *Saccharomycetaceae*, genul *Saccharomyces*, specia *Vini* (după V. I. Kudreavţev). Mai înainte această specie era numită *Ellipsoideus* datorită formei de elipsă a celulelor (fig. 23).

În vinificare se mai folosesc şi levurile *Saccharomyces oviformis*, ce se caracterizează prin forma ovală a celulelor (fig. 24), rezistenţă mai mare la alcool, faţă de *Saccharomyces vini*, şi prin capacitatea de a forma pelicule în prezenţa oxigenului, ce stă la baza producerii heresului.

Fiecare specie de levuri are un număr mare de rase, ce diferă puţin după simptomele exterioare, dar se deosebesc după calităţile lor fiziologice şi biochimice.

Unele rase de levuri încep fermentarea numai peste un timp oa-

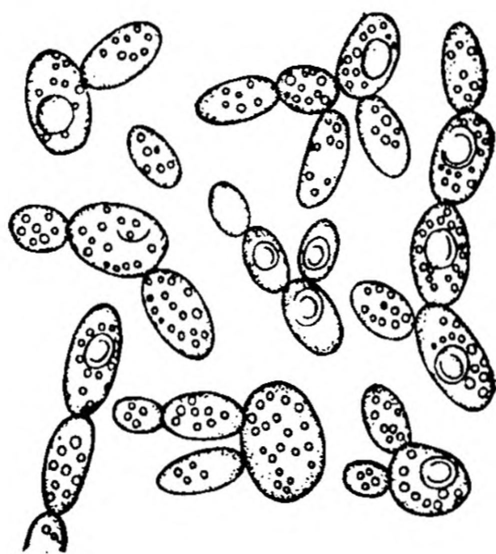


Fig. 23. Levurile *Saccharomyces vini* (×2000)

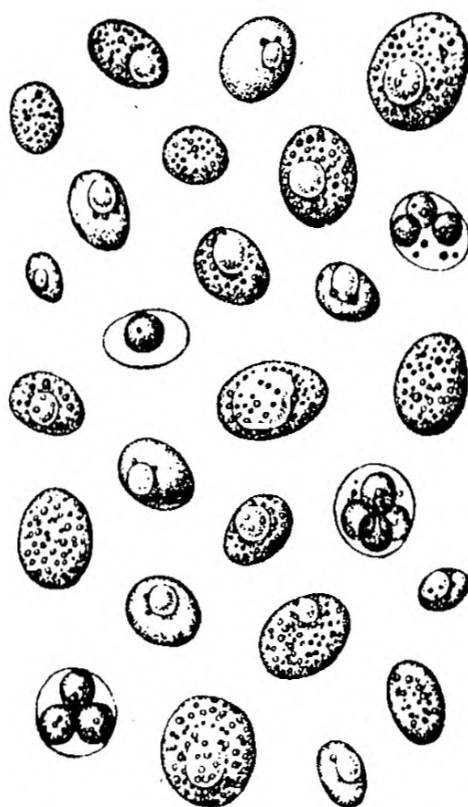


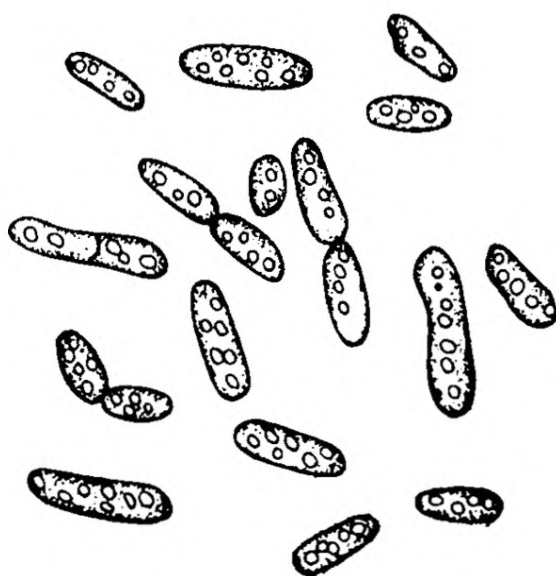
Fig. 24. Levurile *Saccharomyces oviformis* (×2000)

recare după înmulțire; în urma fermentării zahărului formează substanțe ce-i dau vinului gust și aromă neplăcută; după terminarea deplină a fermentării nu sedimentează imediat, ci rămîn în suspensie, ceea ce complică procesul limpezirii vinului; sînt foarte sensibile la acțiunea substanțelor chimice — acidul acetic și anhidrida sulfuroasă, cît și la temperaturi înalte și joase. Alte rase de levuri încep mai repede fermentarea mustului, descompun complet zahărul, formează substanțe, ce înnobilează gustul vinului. Ele încă în timpul fermentării sedimentează la fund, formînd un precipitat compact; sînt puțin sensibile la acțiunile chimice și ale temperaturilor. De aceea in vinificare deosebit de importantă este alegerea raselor de levuri.

Structura celulelor levurilor de vin e la fel ca și la toate celelalte levuri. Levurile de vin se înmulțesc prin înmugurire și cu ajutorul sporilor. Sporii se formează în condiții nefavorabile. Numărul lor variază de la 2 la 4. Sporii se formează pe cale asexuată. Nucleul celulei se divizează într-un număr de părți egal cu numărul sporilor formați. Fiecare nucleu nou format e înconjurat de protoplasmă, se acoperă cu membrană și se transformă în spor, iar celula se transformă în pungă sau ască. Sporii sînt mult mai rezistenți la acțiunile nefavorabile decît celulele vegetale.

O particularitate caracteristică a levurilor de vin constă în rezistența față de spirt (pînă la 16 vol % pentru *Saccharomyces vini* și 18—19 vol % pentru *Saccharomyces oviformis*).

Fig. 25. Levurile *Schizosaccharomyces* (× 2000)



Levurile sălbatice. Levurile sălbatice sînt dăunători ai vinificării. Ele produc substanţe, care înrăutăţesc gustul vinului şi deprimă procesul de dezvoltare a levurilor de vin. Unele genuri ale levurilor sălbatice nu sînt capabile de a provoca fermentarea alcoolului. Altele duc la îmbolnăvirea şi tulburarea vinului.

La levurile sălbatice se referă *Zygosaccharomyces* — levurile acestui gen se aseamănă din punct de vedere morfologic cu levurile *Saccharomyces,* însă formează spori numai după contopirea a două celule (copulaţie). O trăsătură caracteristică a levurilor *Zygosaccharomyces* este osmofilitatea lor înaltă. Ele se dezvoltă în medii cu un conţinut de zahăr de 60—80% (must concentrat, becmes şi miere), provocînd fermentarea lor şi, astfel, reducîndu-le calitatea.

Capacitatea de fermentare a levurilor *Zygosaccharomyces* e redusă, ele fermentează foarte lent şi formează pînă la 10 vol % de spirt.

Schizosaccharomyces — particularitatea caracteristică a acestor levuri constă în inmulţirea prin divizare. Celulele sînt în formă de cilindre scurţi cu extremităţile rotunjite sau ovale (fig. 25). Dimensiunile lor sînt (3,2—4,6)×(13—26) mkm.

Toate speciile genului *Schizosaccharomyces* sînt excitanţi puternici ai fermentării alcoolice. Ele pot fermenta nu numai glucoza şi zaharoza, ci şi maltoza şi dextritele.

În ţările tropicale şi substropicale speciile acestui gen *(Schizosaccharomyces Pombe)* sînt excitanţii fermentării sucurilor trestiei de zahăr şi se folosesc la producerea băuturilor tari (a romului etc.)

În sucurile de fructe şi pomuşoare D. K. Cealenko a descoperit o specie de levuri — degradanţi ai acizilor, numite *Schizosaccharomyces acidodevorax.* Ele pot provoca reducerea catastrofală a acidităţii vinurilor de fructe şi pomuşoare (mai ales de mere) pe calea descompunerii acidului malic (pînă la CO_2 şi H_2O).

Saccharomycodes Ludwigii sînt levuri întîlnite mai des în su-

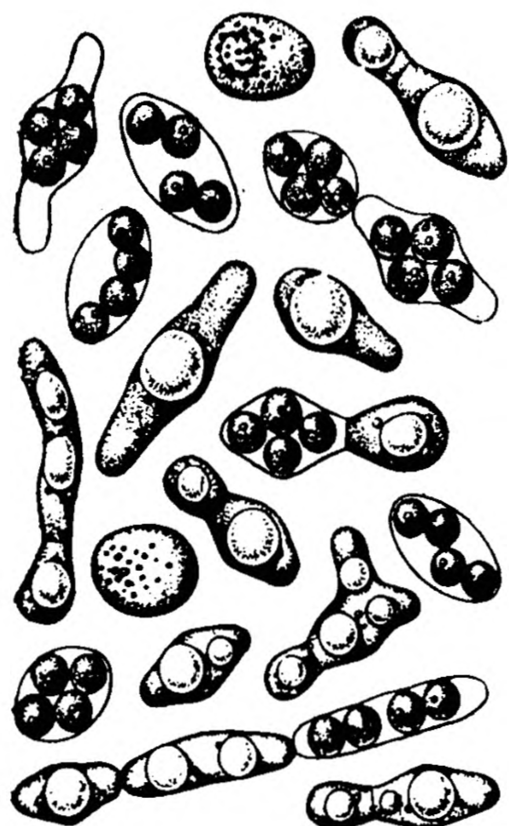


Fig. 26. Levurile *Saccharomycodes Ludwigii* (×2000)

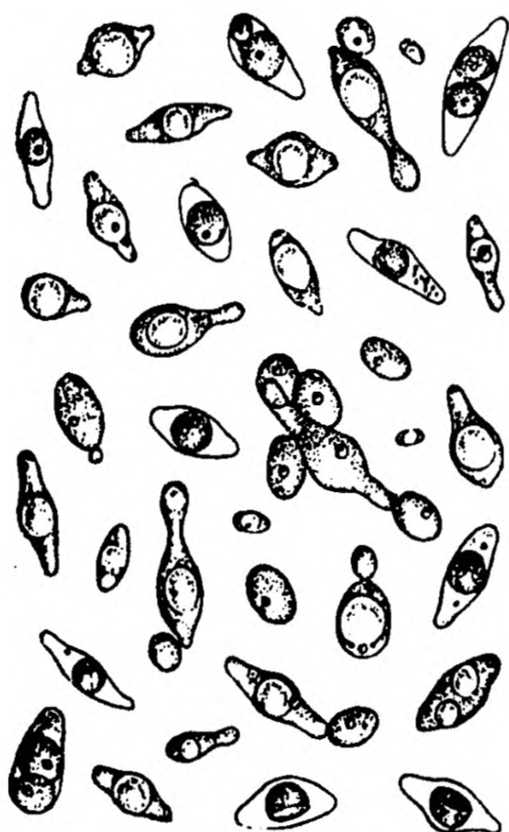


Fig.27. Levurile *Hanseniaspora apiculata* (×2000)

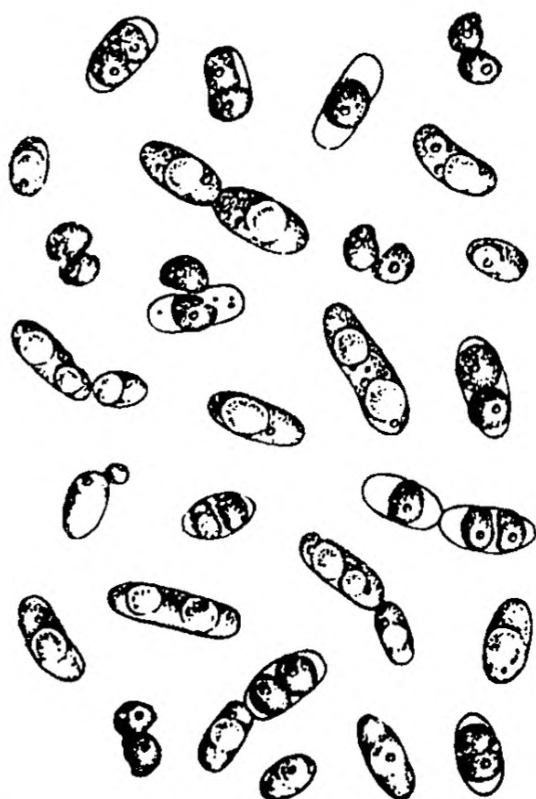
curile de fructe şi pomuşoare, în materialele de vin sulfitate şi fermentate. Forma celulelor tinere e ovală, iar a celor mai mature — în formă de talpă (fig. 26). Dimensiunile celulelor sînt (3—8)×(18—34) mkm. Înmulţirea levurilor începe prin înmugurire şi se termină cu divizarea. La început pe celula-mamă apare o excrescenţă de mugure cu o bază lată, care apoi se separă printr-un perete despărţitor, situat de-a curmezişul.

Levurile provoacă fermentarea mustului şi a sucurilor de fructe şi pomuşoare, formînd 9—12 vol % de spirt. Ele au o rezistenţă înaltă faţă de anhidrida sulfuroasă (se dezvoltă la 500—600 mg/l de SO_2 şi mor abia la 850 mg/l). Adesea provoacă tulburarea cidrului în sticle, vinurilor naturale semidulci, uneori şi a vinurilor de masă şi de şampanie şi chiar a celor alcoolizate.

Aceste levuri se mai întîlnesc în sucurile de mere şi în vinurile supuse dezacidifierii de către levurile *Schizosaccharomyces*. În timpul fermentării alcoolice a mustului şi sucurilor de fructe şi pomuşoare ele împiedică dezvoltarea levurilor de vin.

D. K. Cealenko şi T. F. Korsakova au selecţionat tulpini sulforezistente *Sacch. Ludwigii* din sucul de fructe şi pomuşoare sulfitate în fierbere. Vinurile căpătate aveau aromă plăcută şi gust cu nuanţe de fructe.

Fig. 28. Levurile *Pichia* (×1500)



Hanseniaspora apiculata sînt levuri larg răspîndite în natură. În multe raioane de vinificare alcătuiesc 90% din toată microflora mustului, predestinat fermentării. Celulele acestor levuri au formă caracteristică — capetele rotunde sau ascuţite amintesc lămîia (fig. 27). Printre culturile mature se întîlnesc celule ovale şi alungite. Dimensiunile celulelor sînt comparativ mici — (3—4,5)×(5—11) mkm.

Datorită vitezei mari de reproducere (se înmulţesc de două ori mai repede decît levurile de vin), ele înmuguresc la ambele capete ale celulei şi predomină în mustul supus fermentării spontane. Însă din cauza rezistenţei mici faţă de alcool, ele nu pot duce fermentarea pînă la capăt. La 5 vol. % de spirt (unele tuplini la 7 vol. %) fermentarea încetează.

În urma dezvoltării acestor levuri în must se acumulează produse, ce acţionează nefavorabil nu numai asupra levurilor de vin, ci şi a vinului, care capătă gust amărui şi aromă cu nuanţe neplăcute. Ele contribuie la formarea vinurilor cu fermentaţia neterminată şi sporirea cantităţii acizilor volatili şi a eterilor.

Materialele pentru şampanie, fermentate cu ajutorul *H. apiculata*, după şampanizare se limpezesc greu şi pe pereţii sticlelor formează precipitate lipicioase, ce se spală greu («masca»).

Pichia alcoholofila — aceste levuri au celulele ovale şi eliptice (fig. 28) cu dimensiunile de (3,0—4,5)×(3,5—7,2) mkm. Uneori se întîlnesc în formă de bastonaşe sau de cîrnaţi cu lungimea de 25 mkm. Pentru levurile *Pichia* e caracteristică capacitatea de a asimila zahărul numai prin oxidare (dar nu prin fermentare). Însă ele în activitatea lor vitală sînt adaptate mai mult la oxidarea alcoolilor

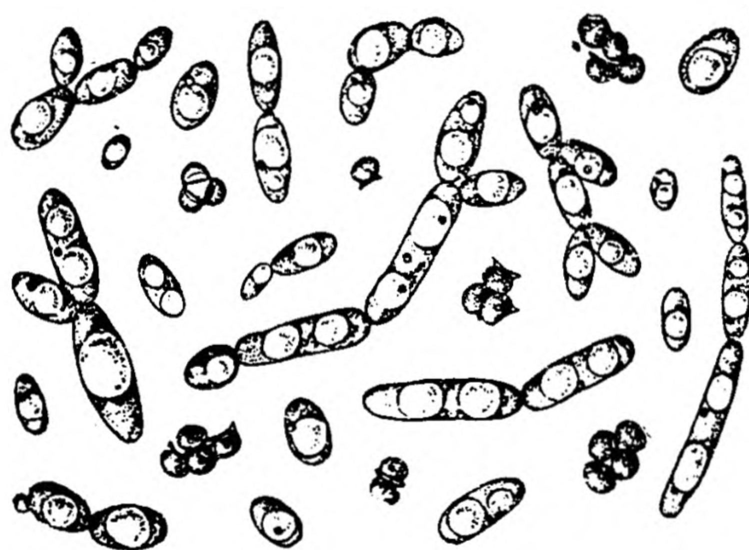


Fig. 29. Levurile *Hansenula* (×2000)

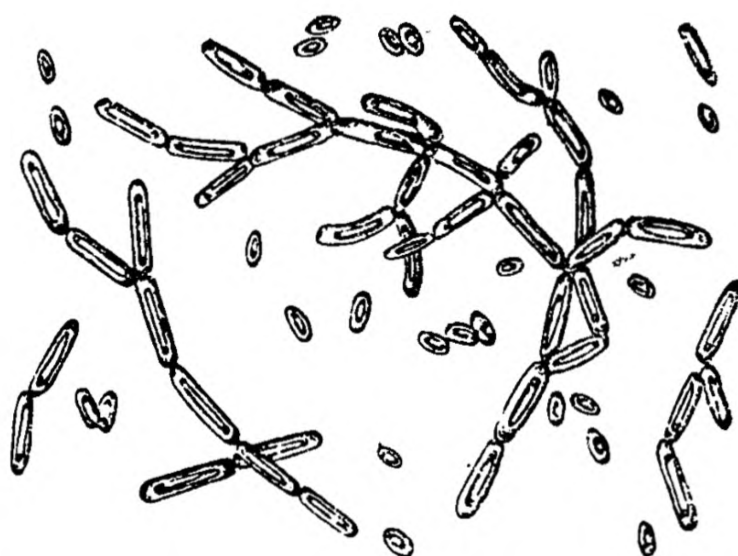


Fig. 30. Levurile *Candidamycoderma* (×800)

şi a acizilor organici decît a zahărului. Levurile *Pichia* se dezvoltă normal la suprafaţa lichidelor ce conţin zahăr, şi a substanţelor ce au trecut fermentarea (vinul, berea etc.), formînd repede peliculă (levuri peliculare).

Pichia este unul din excitanţii bolii «floarea vinului» şi a tulburărilor microbiologice. Dezvoltîndu-se la suprafaţa vinului, aceste levuri influenţează asupra conţinutului şi calităţii gustative ale lui. Astfel în vin sporeşte cantitatea acizilor volatili, se pierde culoarea, gustul capătă nuanţe de fructe şi eteri, farmaceutice. Produsele metabolice ale acestor levuri în must frînează dezvoltarea levurilor de vin şi reduc capacitatea lor fermentativă. La îmbutelierea vinurilor de masă seci (în prezenţa aerului) levurile *Pichia* se înmulţesc repede şi provoacă tulburarea vinului.

Hansenula anomala — celulele acestor levuri diferă după dimensiuni (1,5—6,0)×(3,0—30)mkm şi formă (fig. 29). Celulele care formează peliculă sînt alungite, cu vacuole mari şi cu incluziuni de grăsime, ce refractă puternic lumina. Celulele din precipitat sînt mai mărunte, ovale sau rotunjite, cu plasmă omogenă. Celulele sînt situ-

ate răzleţ, în perechi sau în lanţuri. Sporii formaţi de ele sînt în formă de pălărie, fiecare ască conţinînd de la 1 pîn la 4.

Levurile *Hansenula anolama* fermentează glucoza, manoza, zaharoza, galactoza, maltoza. Ele se dezvoltă repede la suprafaţa mustului de struguri şi de fructe, formînd peste 24 de ore peliculă, iar peste 48 de ore — precipitat, fermentînd simultan şi formînd 2—3 vol % de spirt. Majoritatea tulpinilor se dezvoltă la suprafaţa vinului cu un conţinut nu mai mare de 10 vol % de spirt şi numai unele dintre ele la 11—13 vol %, formînd o peliculă uscată, mată, albă-gri, ce se întinde în sus pe pereţii vasului.

Hansenula e un producător energic de eteri. Ea îi transmite vinului aromă străină de eter acetat de etil. Formează în cantităţi mici acizi volatili. *Hansenula* împreună cu *Pichia* şi *Candida* este excitantul bolii «floarea vinului» cît şi a tulburării lor provocate de levuri.

Candida mycoderma are celule ovale sau cilindrice cu capetele rotunjite (fig. 30). Dimensiunile celulelor — (2—4) × (3,5—9,0) mkm. Incluziunile de grăsimi se acumulează în celule în formă de bile, deseori bipolare, ce refractă puternic lumina. În must şi vin are formă de peliculă uscată, mată, zbîrcită, de culoare albă-gri. *C. mycoderma* nu formează spori şi nu provoacă fermentarea. Datorită dezvoltării ei la suprafaţa vinului în exces de aer, în el se reduce cantitatea de spirt şi extract, sporeşte cantitatea de acizi volatili şi vinul capătă gust picant.

C. mycoderma este excitantul principal al bolii «floarea vinului». Produsele metabolice ale acestor levuri în mediu acid (acizi volatili etc.) reţin dezvoltarea levurilor de vin şi reduc capacitatea lor fermentativă în timpul fermentării repetate.

Torulopsis — din acest gen fac parte organismele monocelulare capabile la înmugurire, dar care nu formează spori. Au formă rotunjită, mai rar ovală. Dimensiunile celulelor ating (2,9—6,5) × (2,9—7,2) mkm. În celule se acumulează în cantităţi mari grăsimi (ce refractă puternic lumina) în formă de picături, ce umplu toată celula. În must şi în vin apare o mucozitate.

Pentru aceste levuri e caracteristică formarea a cîtorva muguri în diferite părţi ale celulei-mame. În dependenţă de specie *Torulopsis* posedă diferite capacităţi de fermentare — de la slabă pînă la puternică.

Specia *Torulopsis bacillaris* provoacă fermentarea spontană a mustului alb şi formează 7—10 vol % de spirt.

Brettanomyces — aceste levuri sînt larg răspîndite în natură. În urma fermentării formează eteri cu aromă de fructe (mere), datorită cărui fapt se întrebuinţează pentru fermentarea adăugătoare la producerea unor soiuri de bere engleză (de Britania).

Celulele au configuraţii diverse: rotunde, ovale, în formă de suliţă, deseori ascuţite dintr-o parte sau din ambele părţi (fig. 31). Se întîlnesc celule în formă de cîrnaţi. Dimensiunile lor ating (2,5—8,8) × × (3,1—6,8) mkm. Spre deosebire de levurile de vin ele fermentează mai lent şi formează 9—12 vol % de spirt. În urma fermentării în-

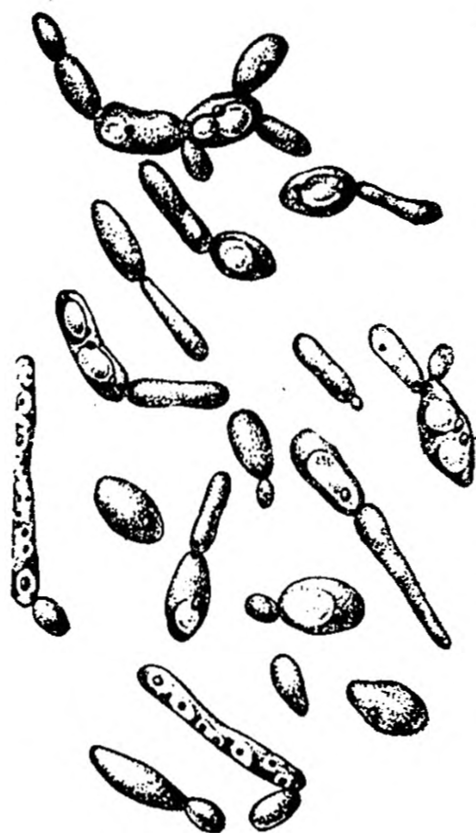


Fig. 31. Levurile *Brettanomyces* (×1500)

chise pot produce 13 vol % de spirt (14 vol. % acţionează distrugător asupra lor).

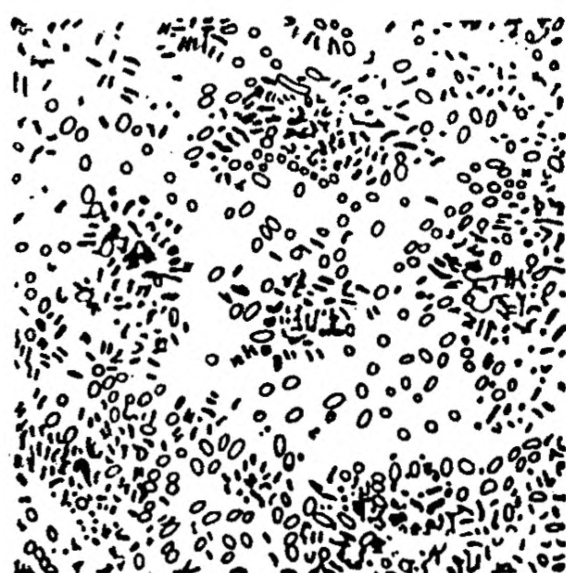
Unele tulpini *Brettanomyces* sînt capabile în anumite condiţii să formeze peliculă, iar mai apoi să provoace fermentarea. Altele, dimpotrivă, mai întîi fermentează zahărul, apoi formează pelicula. Dezvoltarea levurilor *Brettanomyces* în must şi vin duce la alterarea lor. Mustul şi vinul se tulbură, capătă nuanţe străine de mere şi acumulează cantităţi sporite de acid acetic. Aceste levuri aduc daune colosale, mai ales în producerea şampaniei, deoarece duc la fermentarea neterminată a amestecului de tiraj, formînd un precipitat pulverulent, ceea ce complică aducerea sedimentului pe dop şi separarea, sporeşte cantitatea acizilor volatili, şampania capătă nuanţe de fructe şi scad proprietăţile de perlare şi spumare.

§ 2. Bacteriile

Pe bobiţele strugurilor, mai ales pe cele bolnave şi deteriorate, se află o mulţime de genuri şi specii de bacterii. La strivirea bobiţelor ele nimeresc în must, unde unele din ele (în condiţii favorabile) se dezvoltă în vin. În timpul fermentării la o temperatură ridicată se dezvoltă bacteriile de manită, acetice şi lactice — excitanţi ai diferitelor boli ale vinului.

Numai unele specii ale bacteriilor lactice joacă un rol pozitiv în vinurile cu aciditatea sporită — ele descompun acidul malic în acid lactic şi dioxid de carbon, ceea ce duce la înnobilarea gustului vinului şi la sporirea stabilităţii lui împotriva tulburărilor bacte-

Fig. 32. *Lactobacterium mannitopoeum* (× 1000)



riale. În vinurile cu aciditatea redusă prezența acestor bacterii nu e de dorit, deoarece îi înrăutățesc calitatea.

Bacteriile lactice. Morfologia lor e descrisă în partea întîi a manualului.

În vin predomină bacteriile lactice heterofermentative, care provoacă îmbolnăvirea vinurilor, ce conțin zahăr. Excitanți ai bolilor sînt în fond bacteriile lactice ale genului *Lactobacterium*. Cele mai periculoase pentru vinificare sînt *L. brevi, L. buchneri. L. fermenti.*

Lactobacterium mannitopoeum are formă de bastonașe și dimensiunile (0,7—13)×(2—8) mkm (fig. 32). În procesul înmulțirii deseori formează lanțuri. Temperatura optimă de dezvoltare e de 26—34°C. La o temperatură mai joasă de 10°C se dezvoltă foarte slab. Fermentează glucoza și galactoza, formînd acid lactic și acetic, iar fructoza o transformă în manită; descompune energic acizii malic și citric în acid lactic și CO_2. La o temperatură ridicată, în timpul fermentării, formează cantități mari de manită, care este excitantul bolii vinului, numite «fermentația manitică».

Cocii lactici transformă acidul malic bibazic în acid lactic monobazic și bioxid de carbon, ceea ce duce la micșorarea acidității titrabile și acidității active a vinului. Acest proces poartă denumirea de fermentare malolactică sau dezacidifiere biologică.

Bacterium gracile — specie răspîndită mai mult în vinurile germane. Aceste bacterii au forma de bastonașe cu grosimea de 0,5 și lungimea de 0,75—1,0 mkm, deseori se unesc în lanțuri. Sînt organisme heterofermentative. Descompun glucoza în acid lactic, acetic și spirt. Fermentează energic acidul malic, mai puțin energic pe cel citric și nu fermentează defel acizii tartric, succinic și lactic.

Niciodată nu apar în timpul fermentării alcoolice, ci numai după încetarea ei. Sînt puțin capricioase față de temperatură, se pot dezvolta și provoca dezacidierea la 8—10°C.

Micrococcus malolacticus sînt coci mărunți cu diametrul de aproape 1 mkm. La reproducere celulele divizate rămîn pentru un



Fig. 33. *Acetobacter vini acetati* (× 1000)

timp unite, formînd diplococi şi conglomeraţii. Transformă energic acidul malic în acid lactic şi dioxid de carbon, iar zahărul — în acid lactic şi o cantitate nu prea mare de acid acetic. Nu formează manită. Spre deosebire de *Bacterium gracile* sînt mai acidorezistente. La temperatură înaltă şi în prezenţa unei cantităţi sporite de substanţe azotoase îi dau vinului iz de lapte acru.

Micrococcus acidovorax şi *Micrococcus variococcus* din punctul de vedere morfologic au foarte mult comun. În vin se întîlnesc în fond ca coci răzleţi, rareori ca diplo- şi tetracoci. Temperatura optimă 26,5°C. Celulele variococilor variază după dimensiuni (0,7—1,5 mkm).

Bacteriile acetice. Din cele 20 de specii de bacterii acetice în vin se întîlnesc următoarele.

Acetobacter orleanense are celule rotunjit-alungite sau în formă de bastonaşe, deseori răzleţe sau unite în lanţuri. Dimensiunile celulelor — (0,3—0,4) × (1,6—2,4) mkm. La suprafaţa vinului formează o peliculă subţire, ce nu se întinde pe pereţii vasului, celulele căreia sînt strîns unite, de aceea vinul sub ea e absolut limpede. Pelicula se dezvoltă normal la suprafaţa lichidului, rămînînd uscată. Concentraţia maximă de spirt pentru aceste bacterii e de 10—12 vol. %. Produc pînă la 9,3 vol % de acid acetic. Temperatura optimă e de 25—30°C.

La o aciditate neînsemnată şi o temperatură joasă pot oxida acidul acetic produs pînă la dioxid de carbon şi apă. Bacteriile acestea au o productivitate mare şi se întrebuinţează la producerea oţetului.

Acetobacter vini acetati — are celule mărunte, în formă de bastonaşe scurte sau rotunjite, scurtate, cît şi ovale (fig. 33), cu dimensiunile de (0,3—0,4) × (0,8—2,0) mkm. Sînt situate răzleţ sau cîte 2—3. Rareori formează lanţuri. Pelicula e fină, zbîrcită, uşor se lasă în straturile de jos ale vinului şi provoacă tulburarea. Concentraţia maximă de spirt e 9,5 vol. %. Formează pînă la 7 vol. % de acid acetic. N-au capacitatea de supraoxidare. Temperatura optimă este de 28—33°C, cea minimă — 10°C.

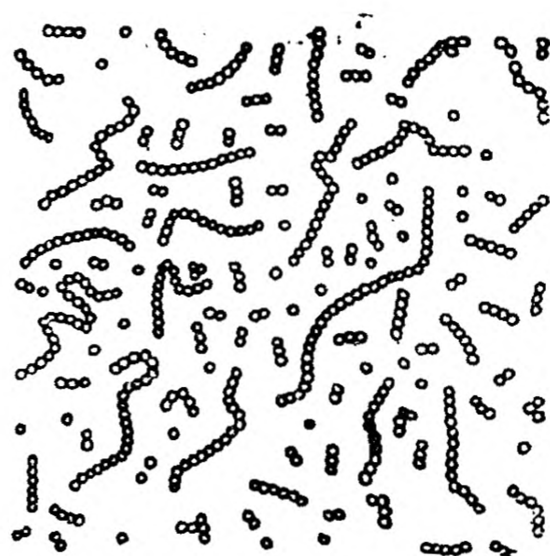


Fig. 34. *Bacterium viscosus vini* (× 1000)

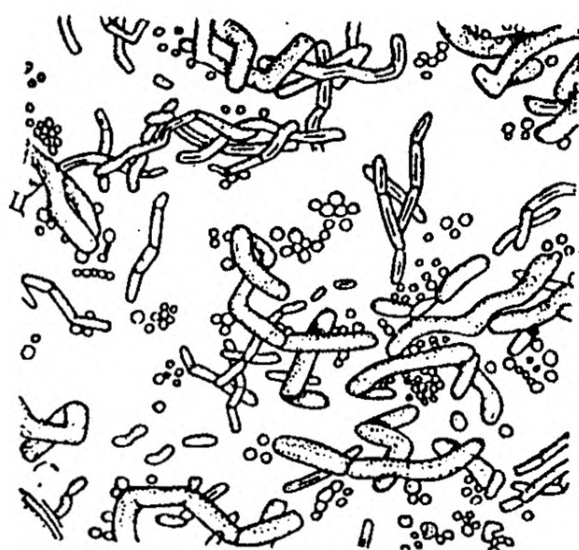


Fig. 35. *Bacterium amaracrylus* (× 1000)

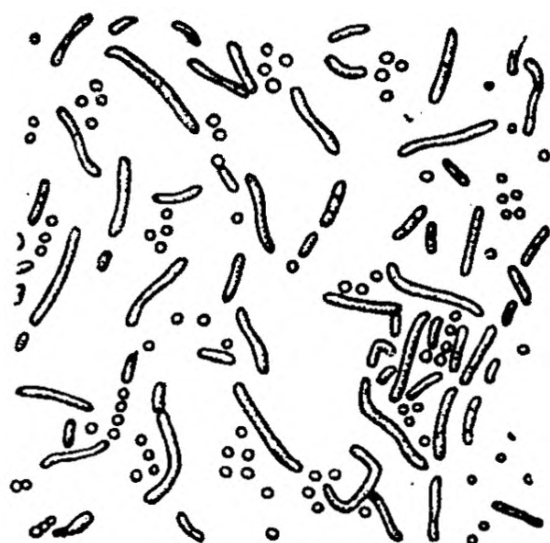


Fig. 36. *Bacterium tartarophtorum* (× 1000)

Acetobacter ascendens are celule în formă de bastonaşe scurte cu dimensiunile (1,2—1,6) × (1,8—2,0) mkm. Sînt situate răzleţ sau perechi (în formă de cifra opt), foarte rar formează lanţuri. Pe suprafaţa vinului formează o peliculă subţire, omogenă, cu luciu albăstriu, ce se întinde în sus pe pereţii vasului. Pelicula de obicei e poroasă, se rupe uşor, cade la fund şi provoacă tulburarea vinului. Bacteriile acestei specii rezistă la 12 vol. % de spirt şi produc 9 vol. % de acid acetic. Temperatura optimă — 31°C, minimă — 10°C. Dacă cantitatea acidului acetic e mică, atunci continuă să-l oxideze. Formează mult eter acetoetilic. Odată cu maturizarea îi atribuie oţetului un miros neplăcut, deaceea această specie e inutilizabilă pentru producerea lui.

Acetobacter xylinum are celule în formă de bastonaşe, lungi şi scurte cu dimensiunile de (0,8—1,0) × (2,0—2,5) mkm. Se întîlnesc şi în formă de fibre, deseori încovoiate ca spirala sau de o configu-

rație neregulată. La suprafața vinului formează o peliculă gelatinoasă-mucoasă. Maturizîndu-se, pelicula se îngroașă, devenind rezistentă, cartilaginoasă. După scufundare formează o masă mucoasă (mitră de oțet). Bacteriile acestei specii se dezvoltă în vinurile cu o cantitate de alcool pînă la 7—8 vol. % și produc nu mai mult de 4,5 vol. % de acid acetic, pe care pot să-l oxideze mai departe pînă la CO_2 și H_2O. Temperatura optimă e de 35—37°C. În urma oxidării spirtului se formează produse secundare cu miros neplăcut.

Bacterium viscosus vini — bacterii ce provoacă băloșirea vinului, în formă de bastonașe scurte (fig. 34) cu dimensiunile de (0,3—0,6) × (2—6) mkm. Ele sînt anaerobe. În lipsa de aer se dezvoltă vertiginos și provoacă băloșirea vinurilor albe. În vinurile bolnave formează niște lanțuri în formă de salbă. Transformă zahărul rezidual în mucozitate.

Bacterium amaracrylus — bacterii în formă de bastonașe aerobe, ce provoacă amăreala vinului, capabile de a forma spori (fig. 35), au dimensiunea de 0,75 × (2—8) mkm. Au capacitatea de a descompune glicerina în acroleină (substanță cu gust amar).

Bacterium tartarophtorum — bacterii în formă de bastonașe scurte, fibre lungi sau scurte (fig. 36). Grosimea bastonașelor e de 0,8—1,8 mkm. Bacteriile sînt imobile, nu formează spori, anaerobe facultative. Descompun acidul tartric și sărurile lui în acid acetic și CO_2, glicerina — în acizi acetic, propionic și lactic, mai reduc fructoza în manită și descompun energic acidul malic, ce duce la îmbolnăvirea vinului.

§ 3. Ciupercile de mucegai

Ciupercile de mucegai sînt răspîndite pretutindeni. Ele fac parte din diferite clase ale ciupercilor. Toate sînt heterotrofe și se dezvoltă pe produsele alimentare (fructe, legume și alte produse de origine vegetală sau animală, provocînd alterarea lor. Pe locul vătămat apare un puf albicios, numit miceliul ciupercii. Peste puțin timp puful capătă diferite nuanțe (de la deschise pînă la întunecate). Colorarea se datorește sporilor formați și ajută la recunoașterea ciupercii.

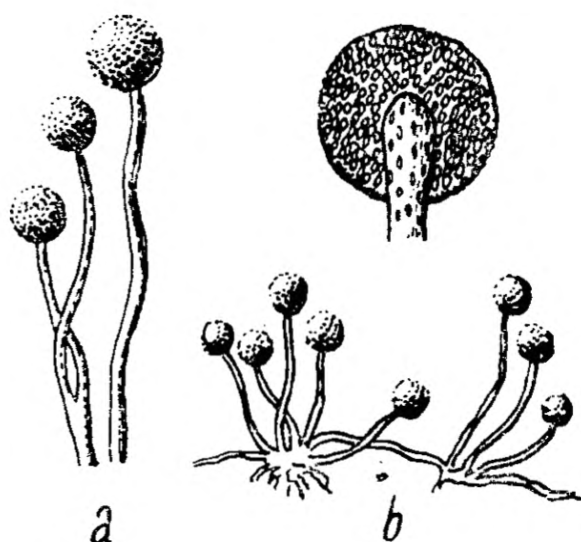
În must mai des întîlnite sînt mucegaiurile *Mucor, Penicillium* și *Aspergillus.*

Mucor face parte din familia *mucorale,* clasa *ficomicete,* subclasa *zigomicete.* Are miceliul unicelular, foarte ramificat, se înmulțește asexuat prin sporangiospori și sexuat prin zigospori. Purtătorii sporangiilor mucorului sînt izolați, simpli sau ramificați (fig. 37).

Din aceeași familie face parte și genul *Rizopus,* care, spre deosebire de mucor, are purtători de sporangi neramificați, situați în formă de tufe pe niște hife, numite stoloni.

Multe ciuperci mucorale au capacitatea de a provoca fermentarea alcoolică. Unele dintre ele *(Mucor racemosus)* se dezvoltă pe suprafața lichidelor ce conțin zahăr, formînd în cazul insuficienței de aer celule asemănătoare cu levurile ce se înmulțesc prin înmugurire, datorită cărui fapt sînt numite levuri mucorale.

Fig. 37. *Phicomycetes:*
a — Mucor; b — Rizopus.



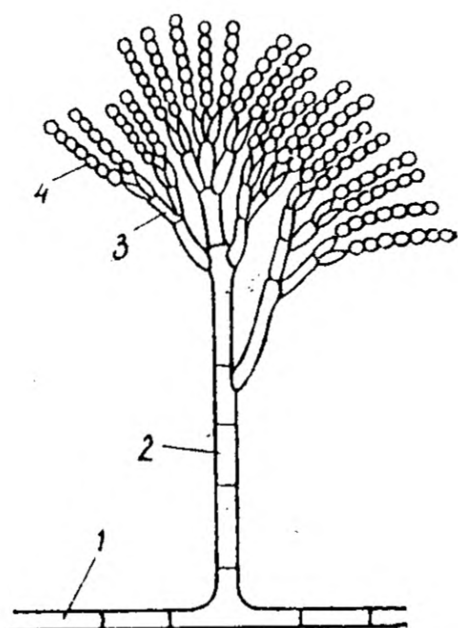


Fig. 38. *Penicillium.*
1 — hifa; 2 — purtătorul de conidii; 3 — sterigma; 4 — conidiosporii.

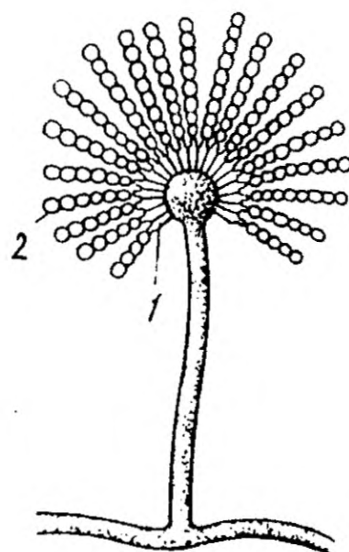


Fig. 39. *Aspergillus niger* (purtător de conidii):
1 — sterigma; 2 — conidiile.

Mucegaiurile *Penicillium* (fig. 38) şi *Aspergillus* (fig. 39) sînt ciuperci ascomicetice din clasa *Ascomicetes.* Au un miceliu multicelular, se înmulţesc, de regulă, prin conidiospori de diferite nuanţe şi sînt situaţi pe purtători de conidii de formă deosebită. Spre exemplu, purtătorii de conidii la *Pencillium* sînt multicelulari, ramificaţi, în formă de pensulă.

Purtătorul de conidii la *Aspergillus* e unicelular, cu vîrful umflat, pe suprafaţa căruia sînt situate radial celule alungite — sterigme cu lanţuri conidiospori.

Aceste ciuperci formează uneori corpuri fructifere în formă de bile mărunte, în interiorul cărora haotic sînt aranjate «pungile» cu spori.

Penicillium şi *Aspergillus* sînt provocatorii alterării produselor

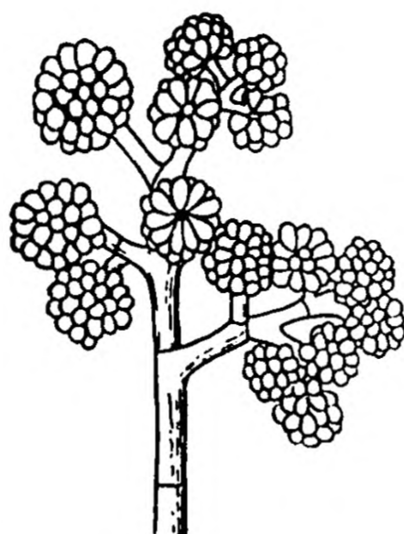


Fig. 40. *Botrytis cinerea*

alimentare şi a materiei organice. Se dezvoltă la suprafaţa mustului, pe butoaie, pe pereţii subsolurilor şi sînt dăunători periculoşi ai vinificării. Pot pătrunde în doaga butoaielor la o adîncime de 2,5 cm. Tara, infectată de mucegai, dă vinului o nuanţă neplăcută de mucegai.

Unele specii ale acestor mucegaiuri au însemnătate tehnică. Spre exemplu, *Penicillium notatum* e folosit la fabricarea antibioticului penicilina. Diferite specii *Aspergillus, Penicillium, Botritis* etc. sînt folosite la producerea preparatelor fermentative (nigrina, avamorina). Specia *Aspergillus niger* e folosită la producerea acidului citric, iar *Aspergillus oryzae* — la producerea băuturii naţionale japoneze din orez — «saka». Ambele specii au capacitatea de a zaharifica amidonul şi pot fi întrebuinţate la producerea spirtului din malţ.

Botrytis cinerea (fig. 40) are o deosebită însemnătate practica printre mucegaiurile întîlnite pe struguri în perioada coacerii lor. Poate influenţa în mod diferit asupra calităţii vinului — pozitiv (mucegaiul nobil) şi negativ (mucegaiul cenuşiu). Totodată influenţează asupra compoziţiei calităţii şi indirect: fungicidele folosite împotriva mucegaiului cenuşiu deseori rămîn pe bobiţe pînă la recoltare şi pot reţine procesul fermentării alcoolice, influenţînd negativ asupra calităţilor gustative ale vinului (în doză de 2 mg/l).

În condiţii meteorologice favorabile (temperatură înaltă şi umiditate medie) dezvoltarea *B. cinerea* pe struguri duce la distrugerea pieliţei bobiţelor, ceea ce duce la sporirea zaharităţii sucului ca rezultat al evaporării intense a apei (cantitatea absolută de zahăr, căpătată pe parcela dată, în urma acestui proces nu sporeşte, ci se reduce, deoarece ciuperca consumă acest zahăr). Aceasta dă posibilitate vinificătorului de a produce din strugurii cu mucegai nobil vinuri naturale semidulci calitative. Condiţii favorabile pentru dezvoltarea deplină a mucegaiului nobil există în unele regiuni ale Franţei (Sotern) şi Germaniei (pe Rhein). În ţară nu avem astfel de regiuni. De aceea ani în şir mulţi enologi lucrează asupra cultivării artificiale a *B. cinerea*.



Fig. 41. Strugure vătămat de *B. cinerea* (mucegaiul cenuşiu)

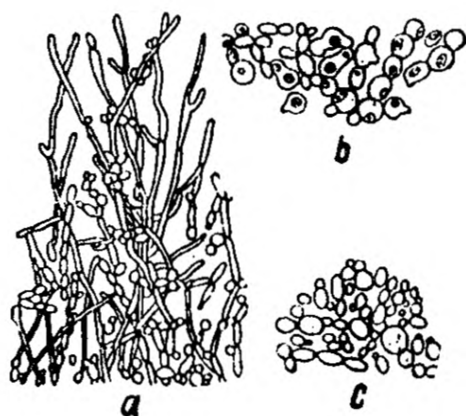


Fig. 42. *Monilia:* a — cultura veche matură; b — în sediment; c — din peliculă.

În condiţii meteorologice nefavorabile pentru vinificare (toamnele reci şi ploioase), *B. cinerea* formează pe struguri mucegaiul cenuşiu (fig. 41); miceliul ciupercii pătrunde în celulele miezului bobiţei, consumă mult zahăr şi acţionează negativ asupra calităţii vinului.

Dezvoltarea *B. cinerea* pe struguri depinde nu numai de temperatură şi umiditate. În primul rînd, mucegaiul nobil poate apărea numai pe soiurile cu struguri rari, deoarece în procesul dezvoltării ciupercii bobiţele se contopesc. În al doilea rînd, bobiţele trebuie să conţină o cantitate anumită de zahăr (mai mult de 20 %). Asupra creşterii ciupercii influenţează şi cantitatea substanţelor azotoase din bobiţe. În condiţii absolut identice mucegaiul cenuşiu se dezvoltă numai pe strugurii soiurilor bogate în substanţe azotoase. Ciuperca produce multe enzime (esteraza, catalaza, lactaza, glucozooxidaza, ascorbinoxidaza, proteaza, ureaza), ceea ce determină acţiunea ei specifică asupra calităţii lui.

În mustul din struguri botritizaţi puternic prevalează levurile *Turulopsis stellata,* ce consumă în special fructoza. Levurile de vin obişnuite *(Saccharomyces vini)* sînt foarte sensibile la acţiunea de inhibare a ciupercii. Pentru distrugerea fermenţilor oxidabili se recomandă încălzirea rapidă a vinului pînă la 55—60°C şi menţinerea acestei temperaturi timp de 5 min cu răcirea ulterioară şi prelucrarea cu gelatină şi bentonită.

Monilia (fig. 42) (în latină înseamnă «salbă»). Ea face parte din genul *Candidă,* care include toate ciupercile asporogene. Majoritatea reprezentanţilor acestui gen se înmulţesc ca şi levurile, prin înmugurire.

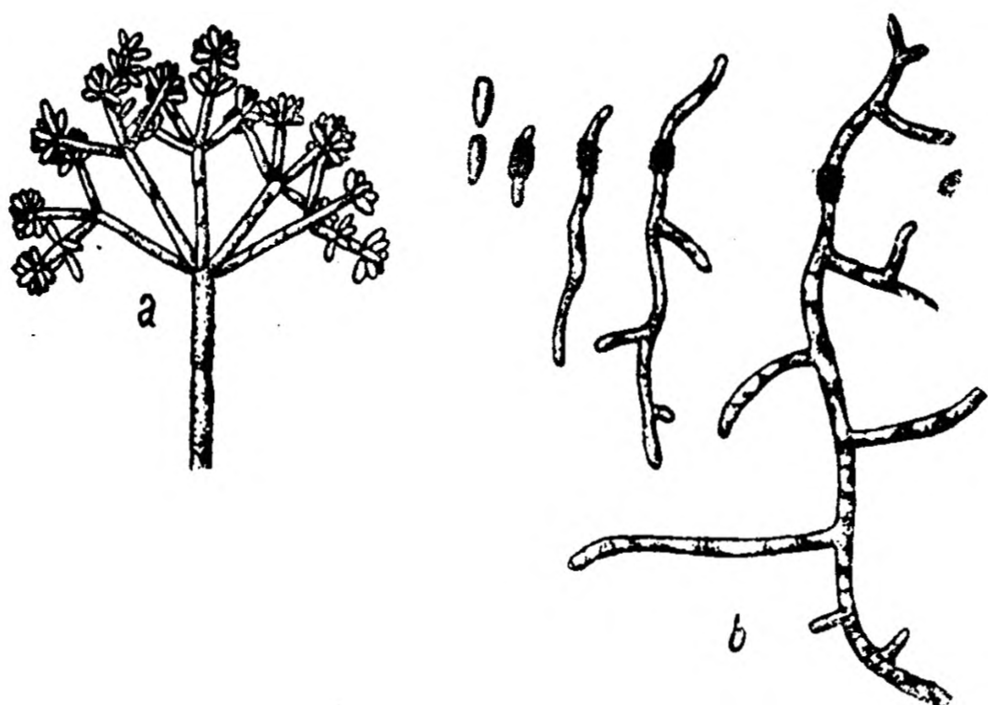


Fig. 43. *Cladosporium cellare:*
a — purtătorii de conidii cu conidii; b — dezvoltarea conidiilor și formarea miceliului.

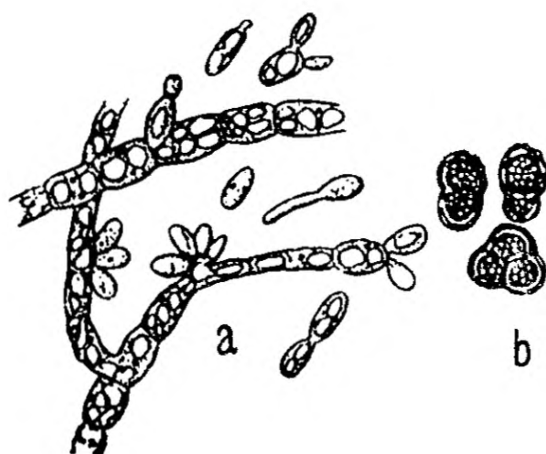
Monilia fructigena este excitatorul mucegaiului fructifer — atacă fructele (merele, perele) cu epiderma vătămată. La început apar pete brune-cenușii, sub care țesutul se înmoaie și devine zimțat-poros. Petele treptat se măresc, acoperind fructul în întregime. Mai tîrziu în locurile vătămate de ciupercă apar negei de culoare gălbuie-cenușie, deseori aranjați în inele concentrice, reprezentînd organele de rod ale ciupercii. La scăderea bruscă a temperaturii fructele vătămate se înnegresc și se întăresc, iar ciuperca trece în faza de repaus, iernînd astfel. Primăvara ea germinează din nou. Conidiile formate astfel se împrăștie, infectînd alte fructe.

Cladosporium are purtători de conidii puțin ramificați, care poartă conidii uni- sau dicelulari. Ei sînt de lungime și formă diferită — în dependență de condițiile de nutriție, umezeală și temperatură.

Cladosporium cellare (fig. 43) — mucegaiul pivnițelor, acoperă pereții, podurile și obiectele din subsolurile vechi. El coboară pe pereți în formă de jurubițe lungi de culoare verde-închisă. Dezvoltîndu-se pe suprafețe dure, miceliul la început e de culoare albă, apoi devine negru. Miceliul acestei ciuperci conține diferite enzime, ceea ce-i permite să folosească în calitate de sursă de carbon vaporii acidului acetic, alcoolii și chiar celuloza. Ca sursă a sulfului pot servi vaporii sulfurii de carbon, hidrogenului sulfurat, anhidridei sulfuroase; a azotului — amoniacul și azotul din aer. Ciuperca mai conține și enzima chitinaza, care-i permite să dizolve învelișurile chitinoase ale larvelor și ale insectelor moarte.

Grație varietății mari de enzime, activității vitale înalte, caracte-

Fig. 44. *Sphaerulina intermixta:*
a — hifele; b — conidiile.



rului nepretențios față de sursele de nutriție, ciuperca apare în locurile nefavorabile pentru alte ciuperici.

Se știe că ciuperca ce se dezvoltă în pivnițele cu vin nu are nici o acțiune asupra lui, nici pozitivă, nici negativă. La 1,6 vol. % de spirt dezvoltarea ciupercii încetează, iar la 2 vol. % de spirt moare. Ea poate aduce daune numai în producerea sucurilor de struguri și mere, în care se dezvoltă foarte bine, formînd miceliul ce se aseamănă cu un cocoloș de vată. Dezvoltîndu-se în suc, ciuperca distruge acizii citric și tartric, ceea ce reduce simțitor aciditatea sucului.

Sphaerulina intermixta (fig. 44) — ciupercă ce înmugurește, larg răspîndită în natură. Deseori se întîlnește pe fructe, butoaie, căzi, pe pereții pivnițelor cu vin, formînd pete mucoase negre. Cele din urmă reprezintă miceliul ciupercii cu un număr mare de celule ovale sau ovale-alungite, asemănătoare cu ale levurilor. În substanțele lichide aceste celule sînt slab legate de hife, se rup ușor, plutesc liber prin lichid și înmuguresc ca levurile.

În condiții nefavorabile hifele se pot transforma în miceliu rezistent cu pereți groși, bogați în grăsimi. Nimerind în mustul de struguri sau de mere, aceste micelii formează fibre, pe care crește un număr mare de conidii asemănătoare levurilor; pe suprafața mustului formează o peliculă din fibre, iar mai sus, pe pereții vasului, apar din nou celule rezistente.

Dezvoltîndu-se în must, *Sphaerulina intermixta* formează o cantitate mică (pînă la 2 vol. %) de spirt și acizi organici — acetic, lactic, succinic. În sucurile nefermentate poate provoca băloșirea și micșora zaharozitatea sucului. Ciuperca se poate alimenta cu vapori de spirt, dezvoltîndu-se în formă de depunere mucoasă pe pereții pivnițelor.

CAPITOLUL 2

INFLUENŢA FACTORILOR MEDIULUI ASUPRA PROCESELOR VITALE METABOLICE, DE CREŞTERE ŞI REPRODUCERE ALE LEVURILOR

§ 1. Factorii fizico-chimici

Temperatura. Un rol important în procesul fermentaţiei alcoolice şi asupra calităţii vinului îl joacă temperatura. La temperaturi joase (pînă la 10°C) fermentaţia în genere nu are loc. Iată de ce procesul tehnologic de răcire a mustului nefermentat se foloseşte pentru prevenirea (în producerea sucurilor) sau reţinerea (la limpezirea prin sedimentare) fermentaţiei. Răcirea mustului în fierbere sau a vinului, ce reţine procesul fermentaţiei, se foloseşte la producerea şampaniei şi a vinurilor semidulci.

Valoarea maximă a temperaturii fermentaţiei alcoolice este de 37°C. Prin urmare, temperatura înaltă a mustului, care merge la fermentaţie, spre exemplu în ţările calde, poate fi cauza fermentaţiei neterminate.

Trebuie menţionat faptul că în timpul fermentaţiei se degajă căldură – 113,13 kJ din fiecare hectomol de zahăr. Întrucît 1 l de must conţine 189 g de zahăr, adică un hectomol, în timpul fermentaţiei el se poate încălzi pînă la 27°C sau practic pînă la 20°C. O parte din această căldură se pierde în timpul fermentaţiei, alta rămîne, ridicînd temperatura mustului. Deci prelucrarea raţională a strugurilor deseori necesită răcirea mustului în fierbere, mai ales dacă fermentaţia are loc în vase mari, unde pierderile de căldură sînt neînsemnate.

În urma fermentaţiei unuia şi aceluiaşi must în butoaie diferite s-au căpătat următoarele temperaturi ale mustului (temperatura încăperii era 13°C);

Volumul butoiului,	1 600	1 200	4 800	7 200
Temperatura,° C	19—22	21—25	30	33

În cazul fermentaţiei mustului la temperaturi joase, din contra, e nevoie de a încălzi mustul şi încăperile, în caz contrar, fermentaţia va fi neterminată. Comportarea levurilor faţă de temperatura de fermentaţie diferă în dependenţă de specie şi rasă. Unele rase de levuri, aşa-numitele criofile (rezistente la frig), pot fermenta mustul chiar şi la o temperatură comparativ joasă (5°C).

Fermentaţia la temperaturi înalte are un şir de neajunsuri şi anume:

poate provoca slăbirea levurilor şi sistarea fermentaţiei;

levurile produc substanţe, care inhibează însăşi fermentaţia;

poate avea loc dezvoltarea microflorei străine, în primul rînd a bacteriilor acetice, cît şi a celor de manită;

fermentaţia violentă duce la pierderea parţială cu CO_2 a unor substanţe volatile, în special a celor aromatice.

De aceea la întreprinderile contemporane mari e necesar de a avea mijloace şi utilaj pentru încălzirea şi răcirea mustului în fierbere.

Temperatura optimă a fermentaţiei e de 15—25°C, iar în producerea şampaniei — pînă la 15°C. Fermentaţia la temperaturi joase se practică numai în producerea vinurilor albe. Vinurile roşii, care se produc de obicei prin fermentaţia pe boştină, în urma fermentaţiei la temperaturi joase nu corespund condiţiilor indicate din cauza extracţiei insuficiente a substanţelor din boştină, mai ales a celor fenolice (colorante şi tanante).

Chiar şi în lipsa microflorei străine conţinutul vinurilor, căpătate din acelaşi must, dar fermentate la diferite temperaturi, diferă.

Zahărul. Sucurile de struguri conţin în cantităţi egale glucoză şi fructoză, uneori şi o cantitate nu prea mare de zaharoză. În unele cazuri zaharoza se adaugă în procesul pregătirii vinului.

Glucoza şi fructoza sînt fermentate direct de către levuri, iar zaharoza în prealabil e transformată în zahăr invertit (cantităţi egale de glucoză şi fructoză) cu ajutorul fermentului — fructofuranozidaza (zaharaza, invertaza), produs de ele. Prin urmare, conţinutul calitativ al zaharurilor nu au o influenţă însemnată asupra fermentaţiei alcoolice. Fructoza însă e fermentată mai greu decît glucoza, de aceea în zahărul rezidual al vinurilor ea poate alcătui o parte mai mare.

Mustul folosit în vinificare ce conţine 15—25% de zahăr, e uşor fermentat de levuri, deşi la presiunea osmotică ridicată (pînă la 0,5 MPa). Numai concentraţiile înalte de zahăr (40—45%), adică mediul cu presiune osmotică ridicată, poate frîna procesul fermentaţiei. Mustul cu un astfel de procent de zaharitate e folosit foarte rar — la prepararea vinurilor licoroase.

Mustul de struguri concentrat cu un conţinut de zahăr de 80% se întrebuinţează în vinificare la producerea vinurilor dulci în calitate de component al cupajului. Acest must nu poate fi fermentat de levurile de vin obişnuite, ci numai levurile *Zygosaccharomyces* îl pot fermenta parţial, deoarece posedă osmofilitate înaltă (rezistă la presiuni osmotice mari — 10—20 MPa).

După terminarea fermentaţiei alcoolice (la producerea vinurilor seci) poate să rămînă o cantitate nu prea mare (aproximativ 0,5—1 %) de zahăr din must (vin cu fermentaţia neterminată). Acest zahăr permite diferiţilor microbi, inclusiv şi levurilor sălbatice, să se înmulţească, ceea ce duce la tulburarea sau îmbolnăvirea vinurilor. Vinurile cu fermentaţia neterminată, întrebuinţate pentru pregătirea vinurilor de masă dulci şi semidulci, cer o atenţie deosebită din partea laboratorului controlului tehnochimic.

Spirtul. Alcoolul etilic, format în timpul fermentaţiei alcoolice, încă pînă la terminarea ei, influenţează simţitor asupra componenţei microflorei mustului. În primul rînd, el reprimă levurile *Hanseniaspora apiculata,* care suportă concentraţia spirtului de pînă

la 4 vol. %, apoi un şir de alte levuri sălbatice. Conţinutul alcoolului etilic determină rezistenţa vinului la microflora ce se dezvoltă în el şi depinde de tipul vinului. Vinurile seci (fermentate deplin) conţin, de regulă, atîta spirt, cît se poate forma din zahărul iniţial al mustului (din 1 % de zahăr se formează 0,6 vol. % spirt) — circa 10—12 vol. %. În cazul condiţiilor climaterice nefavorabile (toamnă rece), cînd strugurii nu reuşesc să se coacă, se permite a adăuga zaharoză — cîte 17 g/l la fiecare vol. % de spirt suplimentar, însă cantitatea totală a spirtului în vin să nu depăşească 9 vol %. În producerea vinurilor alcoolizate se permite a adăuga alcool rafinat, astfel încît cantitatea lui totală în vin să nu depăşească 20 vol. %. În vinurile cu un conţinut de 17—20 vol. % de spirt cea mai mare parte a microflorei nu se dezvoltă.

Acţiunea combinată a spirtului şi zahărului. Multe vinuri conţin cantităţi mari de spirt (pînă la 20 vol. %) şi de zahăr (pînă la 30%). Astfel de vinuri sînt mai rezistente la dezvoltarea în ele a microorganismelor, decît vinurile cu acelaşi conţinut de spirt, dar fără zahăr. Enologul rus Delle la sfîrşitul secolului trecut a propus o metodă simplă de apreciere a rezistenţei vinurilor la fermentaţie în unităţi conservante, numite Delle. Esenţa calculului e următoarea: valoarea cantităţii spirtului (în vol. %) se înmulţeşte cu 4,5 şi se adaugă valoarea cantităţii zahărului (în %). Dacă valoarea căpătată e mai mare de 80, atunci vinul e rezistent la procesul de începere a fermentării, dacă e mai mică — e nerezistent.

Exemplu. Vinul conţine 12 vol. % de spirt şi 26 % de zahăr. Calculăm valoarea unităţilor Delle: $12 \times 4{,}5 + 26 = 80$ unit.— vinul e rezistent.

Vinul conţine 15 vol % de spirt şi 5 % de zahăr. Unităţile Delle alcătuiesc $4{,}5 \times 15 + 5 = 72{,}5$ unit.— acest vin e nestabil.

Desigur, calculul e aproximativ, deoarece asupra procesului de începere a fermentaţiei mai influenţează un şir de factori — temperatura, cantitatea substanţelor azotoase şi a antisepticilor, mai ales a acizilor sorbic şi sulfuros etc. Unele tipuri de vin, inclusiv şi cele demidulci, conţin mai puţin de 80 unităţi Delle şi pentru prepararea lor e necesar a folosi inhibitori ai fermentaţiei.

Substanţele azotoase. Pentru activitatea vitală a oricăror microorganisme în must şi vin e necesară asigurarea lor deplină cu una din cele mai importante substanţe nutritive — azotul. Cantitatea substanţelor azotoase din must (0,5—1,0 g/l) asigură, de regulă, fermentaţia alcoolică primară, deoarece cea mai mare parte a azotului se află sub formă de compuşi accesibili pentru levuri (azot aminic).

Însă în vinificarea primară foarte rar se recurge la hrănirea suplimentară a levurilor cu săruri amoniacale. În procesul fermentaţiei alcoolice, la care se formează o cantitate mare de levuri, aproape jumătate din cantitatea azotului iniţial al mustului trece în celulele levurilor şi se înlătură la prima pritocire. Numai în urma contactului îndelungat al vinului cu levurile are loc descompunerea celulelor

levurilor (autoliza), o parte din cantitatea azotului din levuri trece din nou în vin. Azotul rămas în vinul tînăr joacă un rol însemnat în procesele biologice ulterioare, care au loc de acum în prezența unei cantități reduse de substanțe azotoase. O astfel de activitate vitală au levurile la producerea vinurilor de heres, spumante (levurile se reproduc din nou şi provoacă fermentarea repetată a vinului), în timpul păstrării vinurilor seci (după fermentația alcoolică poate avea loc fermentația malicolactică, provocată de bacterii).

La toate etapele de existență a vinului se poate dezvolta microflora (bacteriile, levurile peliculare etc.), ce poate provoca diferite boli ale vinurilor. De aceea vinurile bogate în azot (din solurile fertile) sau înnobilate cu el artificial în urma autolizei levurilor, trebuie supuse supravegherii sistematice din partea lucrărtorilor laboratorului de control tehnochimic. Insuficiența substanțelor azotoase în vinul tînăr poate frîna fermentația alcoolică repetată. La aceasta se recurge în cazul cînd e nevoie de a căpăta artificial vin cu fermentația neterminată (vinurile naturale spumoase şi cele demiseci).

Elementele minerale. Cantitatea substanțelor minerale în sucul de struguri (aproximativ 3 g/l), de obicei, aprovizionează nutriția levurilor şi a altor microorganisme chiar şi după terminarea fermentației alcoolice, cînd cantitatea lor se reduce aproximativ pînă la 2 g/l în urma absorbției de către celulele levurilor, cît şi în urma sedimentării parțiale a hidrotartratului de kaliu. Dintre elementele consumate de levuri cel mai important este fosforul. Uneori în must cantitatea lui e insuficientă pentru fermentația alcoolică primară. În acest caz el trebuie adăugat (în formă de fosfat de amoniu). Un şir de microelemente (fierul, cuprul, manganul etc.) influențează puternic asupra dezvoltării levurilor în producerea heresului. Cantitatea obişnuită a microelementelor din must şi vin (cîteva miligrame la litru) nu are o influență puternică asupra fermentației alcoolice.

Aciditatea activă (pH). Aciditatea activă a mustului şi vinului influențează asupra dezvoltării microflorei vinului. Aciditatea activă obişnuită a mustului şi vinului (pH 2,7—4,0) nu este un obstacol pentru levuri în timpul fermentației. În schimb bacteriile, mai ales cele lactice, nu suportă aciditatea activă înaltă (pH 2,7—3,1). Astfel. cu cît valoarea pH-ului e mai mică, cu atît mai bine vinul e protejat de aceste bacterii. Acidularea mustului şi vinului (cu acizii tartric şi citric), tratarea cu ipsos şi cu ioniți în formă de H^+ sînt măsuri eficace în lupta cu unele boli ale vinurilor.

Oxigenul. Oxigenul din aer, dizolvat în must sau vin într-o cantitate de cîteva miligrame la litru, are o influență mare asupra activității vitale a microorganismelor, şi în primul rînd a levurilor, care necesită oxigen în procesul înmulțirii. Cu ajutorul aerării energice se poate provoca reînceperea fermentației mustului cu fermentarea neterminată. Vinurile care conțin zahăr şi nu manifestă nici un semn de fermentație pot începe fermentația în urma aerării puternice.

În timpul îmbutelierii vinului e necesar a evita pătrunderea oxigenului din aer, deoarece aceasta poate provoca mai tîrziu înmulțirea levurilor rămase în vin şi tulburarea lui.

Multe microorganisme (bacteriile acetice, levurile peliculare ş. a.) nu se pot dezvolta în vinuri în lipsa aerului. Astfel una din măsurile împotriva dezvoltării lor este păstrarea vinului în vase închise ermetic. Levurile necesită oxigen atît pentru înmulţire, cît şi pentru a-şi manifesta capacităţile fermentative în producerea vinurilor de tipul heres.

Dioxidul de carbon. Dioxidul de carbon, ce se degajă în timpul fermentaţiei, nimereşte în aer şi aproape că nu influenţează asupra ei. Numai la producerea vinurilor spumante, cînd fermentaţia repetată are loc în spaţiu închis, levurile sînt nevoite să suporte presiuni înalte ale bioxidului de carbon (pînă la 0,6 MPa). Există rase speciale ale levurilor pentru şampanie, acomodate la astfel de condiţii.

Particulele în suspensie. O influenţă hotărîtoare asupra fermentaţiei alcoolice o au particulele în suspensie din must: bucăţile de pulpă şi pieliţă, particulele de pămînt şi suspensiile de bentonită. Celulele levurilor, fixîndu-se pe aceste particule, difundă uniform prin tot volumul lichidului în fierbere, astfel fermentaţia se intensifică şi se accelerează evaporarea CO_2. Reglînd cantitatea particulelor în suspensie din must (prin decantare sau centrifugare, sau, dimpotrivă, prin adăugarea prafurilor inerte), se poate regla mersul fermentaţiei alcoolice.

§ 2. Succesiunea microorganismelor mustului în timpul fermentaţiei spontane

In urma strivirii strugurilor în must nimereşte o cantitate însemnată de microorganisme de pe suprafaţa bobiţelor şi a ciorchinilor. Acestea sînt diferite genuri şi specii de levuri, bacterii, mucegaiuri şi chiar infuzorii şi alge. Sub influenţa acizilor liberi şi a presiunii osmotice a soluţiei de zahăr, ce se află în must, are loc selecţionarea biologică strictă. Microorganismele, care nu suportă aciditatea activă înaltă şi concentraţia de zahăr sporită, îşi încetează dezvoltarea, multe dintre ele mor (bacteriile, mucegaiurile). Microorganismele acidorezistente încep lupta pentru a pune stăpînire pe mediu. O dată cu începerea fermentaţiei alcoolice, în mediu se acumulează spirt, iar concentraţia oxigenului scade. Astfel primele îşi întrerup existenţa microorganismele aerobe. Lupta o continuă genurile şi rasele de levuri, care au capacitatea de a forma spirt, suportînd diferite concentraţii ale lui.

Savantul francez Peino a studiat timp îndelungat compoziţia şi schimbul reciproc al microorganismelor în timpul fermentaţiei alcoolice, demonstrînd că la fermentaţie participă levuri asporogene, ce aparţin la 5 genuri, care includ 8 specii şi levuri sporogene, ce aparţin la 6 genuri şi includ 20 de specii. Schimbul reciproc între levuri în timpul fermentaţiei are loc în ordinea următoare. Fermentaţia mustului o încep deseori levurile cu o capacitate de fermentaţie mică, dar care divizează prin înmugurire puternică, şi anume *Hanseniaspo-*

ra apiculata şi *Torulopsis bacilarius*. Însă levurilor *H. apiculata* le aparţine acest rol la fermentaţia soiurilor de struguri roşii. Ele au capacitatea de a forma 4—5 vol % de spirt, iar *T. bacillaris*, ca levuri mai rezistente,—7—10 vol %. Ambele specii sînt slab rezistente la acţiunea SO_2. Iată de ce în mustul sulfitat activitatea lor scade, pe cînd *Sacch. vini*, ca levuri sulforezistente, capătă posibilitatea de a se înmulţi. Ele reprimă în întregime levurile *H. apiculata* şi *T. bacillaris*.

Sacch. vini mai sînt şi alcoolorezistente: ele suportă concentraţia spirtului de la 8 pînă la 16 vol %, în dependenţă de rasă.

Fermentaţia zahărului o continuă rasele genului *Sacch. oviformis*. Ele formează cantitatea maximă de spirt — 18—19 vol %. În procesul fermentaţiei procentul celulelor *Sacch. oviformis* creşte treptat. Conform rezultatelor lui Peino, în mustul proaspăt cantitatea lor relativă nu depăşeşte 5 la mie, iar spre sfîrşitul fermentaţiei deseori atinge 1/3 din toate celulele levurilor.

Astfel, fermentaţia spontană a mustului e provocată de flora numeroasă a levurilor, iar fermentaţia secundară e provocată, în special, de levurile *Sacch. oviformis*. Ele, datorită alcoolorezistenţei lor, sînt capabile de a fermenta rămăşiţele de zahăr. Ele îşi pot păstra activitatea vitală în decursul cîtorva luni şi chiar ani.

§ 3. Fermentaţia provocată

Fermentaţia provocată se face cu ajutorul omului, care intervine cu un adaos de levuri. La o astfel de fermentaţie succesiunea levurilor nu mai are loc. Fermentaţia e provocată de levuri selecţionate.

Fermentaţia provocată poate fi relativ pură şi absolut pură.

Fermentaţia relativ pură are loc atunci, cînd levurile adăugate, fiind într-un număr mare, modifică fenomenele de competiţie (între ele şi levurile sălbatice din must) în avantajul lor: pun stăpînire pe mediu şi devin de la început pînă la sfîrşit principalii realizatori ai fermentaţiei alcoolice.

La fermentaţia relativ pură se referă şi fermentaţia sulfitică. Aici, în urma sulfitării mustului pînă la fierbere, microflora naturală e inactivată, în afară de levurile de vin naturale, care şi sînt excitanţii acestei fermentaţii.

Fermentaţia absolut pură poate avea loc, dacă în prealabil din must este înlăturată toată microflora naturală prin pasteurizare sau filtrare de sterilizare şi fermentaţia este realizată de levurile selecţionate adăugate.

În practica tehnologică cea mai frecventă este fermentaţia relativ pură.

§ 4. Lupta levurilor *Saccharomyces* pentru existenţă

Biven şi Makover în anul 1963 au descoperit antagonismul între rasele levurilor *Saccharomyces,* care constă în faptul că unele levuri pot produce substanţe capabile de a nimici alte levuri. Această capacitate a fost denumită factor-chiller, iar levurile ce o posedă sînt atribuite la fenotipul chillerilor (ucigaşilor). Factorul-chiller constă din proteină şi polizaharidă (3 : 1).

Levurile, care mor în urma acţiunii factorului-chiller, se referă la fenotipul celor sensibile.

Fenotipul al treilea îl formează levurile neutre, care nu sînt nimicite de levurile ucigaşe şi nu reprimă dezvoltarea celor sensibile.

În procesul fermentaţiei prioritatea e de partea levurilor ucigaşe şi neutre, iar cele sensibile mor în lupta de concurenţă cu ele. Prin urmare, pentru asigurarea fermentaţiei cu levuri selecţionate e necesar a adăuga în must maiaua levurilor de rase competitive a fenotipilor chiller sau neutre.

CAPITOLUL 3
LEVURILE SELECŢIONATE

§ 1. Rolul levurilor selecţionate în vinificaţie

Prin levuri selecţionate se înţeleg levurile provenite dintr-o celulă, alese special prin selecţie pentru anumite tipuri de vinuri — de masă, de şampanie, semidulci, de desert, alcoolizate, de heres etc.

Numai folosind levuri selecţionate, se pot fabrica vinuri cu calităţi dorite. Aceasta are loc datorită faptului că maiaua levurilor selecţionate, adăugată în must, nimereşte în condiţii optime şi levurile se reproduc energic, deprimă microflora sălbatică, dirijează procesul de fermentaţie, fermentînd repede zahărul.

Pentru prima dată levurile selecţionate dintr-o singură celulă au fost căpătate de botanistul danez Ganzen în anul 1881 (de exemplu, pentru producerea berii). În vinificaţie levurile selecţionate au fost întrebuinţate pentru prima dată de savantul german Müller-Turgau.

În Rusia primele experienţe cu levuri selecţionate au fost efectuate în grădina botanică Nikitski de către K. A Rudski şi A. M. Nastiucov (1893—1897).

Savanţii au elaborat şi studiat un şir de tulpini ale levurilor selecţionate, recomandate pentru producerea vinurilor:

levuri pentru vinurile albe — din acest grup fac parte toate rasele levurilor selecţionate, ce se dezvoltă normal în mustul de struguri copţi, repede se înmulţesc, deprimă dezvoltarea microorganismelor dăunătoare, fermentează în întregime zahărul, sedimentează bine şi înnobilează calitatea vinului;

levuri pentru vinurile roşii — au aceleaşi calităţi, ca şi levurile

pentru vinurile albe, dar sînt mai rezistente la cantităţi sporite de substanţe tanante şi colorante;

levuri alcoolorezistente — sînt rasele speciei *Saccharomyces oviformis*, se înmulţesc repede în prezenţa spirtului şi mai posedă şi alte calităţi pozitive;

levuri pentru producerea şampaniei — sînt rase de levuri alcoolorezistente, capabile de a fermenta sub presiunea ridicată a dioxidului de carbon (pînă la 0,6 MPa), produc vinuri cu proprietăţi de perlare şi spumare, sedimentează bine, fără a se depune pe pereţii sticlelor în timpul şampanizării la sticle;

levuri sulfitorezistente — sînt rasele acomodate la fermentare în prezenţa cantităţilor mari de anhidridă sulfuroasă (150—200 mg/l); ele în prealabil se cultivă în medii cu cantităţi crescînde de SO_2;

levuri rezistente la frig şi la cald — sînt acomodate la temperaturi joase (4—10°C) sau ridicate (30—35°C) de fermentare;

levuri de heres — rase, care în acces de aer formează repede la suprafaţa vinului peliculă, formînd substanţe aromatice şi gustative, caracteristice vinurilor de tip heres.

Levurile selecţionate se află în instituţiile de cercetări ştiinţifice şi în laboratoarele centrale de vinificare şi se expediază la cerinţele producerii. În timpul selecţiei se ţine cont de fenotipul cărui aparţin: ucigaşe, sensibile sau neutre. Prioritate se dă raselor de levuri selecţionate din fenotipul ucigaşelor sau neutre. Cele sensibile în procesul fermentaţiei alcoolice sînt înlăturate de levurile naturale ucigaşe, care vor continua procesul fermentaţiei.

Folosirea levurilor selecţionate permite a evita orice caz neprevăzut de dereglare a fermentaţiei alcoolice, a evidenţia calităţile pozitive specifice vinului din soiul de struguri dat.

Fermentaţia cu ajutorul levurilor selecţionate are un şir de avantaje:

mustul începe să fermenteze repede, şi anume cu ajutorul acelor levuri, proprietăţile cărora sînt deja cunoscute;

fermentaţia decurge lent, fără spumare abundenţă şi duce la fermentaţia deplină şi profundă a zahărului;

în urma fermentaţiei se formează cu 0,5—1,0 vol % de spirt mai mult decît în urma fermentaţiei spontane;

vinurile conţin mai puţini acizi şi eteri volatili, mai repede se limpezesc, posedă gust şi aromă curate, mai puţin sînt supuse bolilor decît vinurile căpătate în rezultatul fermentaţiei spontane.

§ 2. Metodele de căpătare a levurilor selecţionate

Metoda lui Koch. Materialul iniţial (sedimentul de levuri, vinul, sucul în fierbere, suspensie de pămînt etc.) se dizolvă în dependenţă de numărul celulelor în raport de 1 : 100 sau 1 : 1000 cu apă sterilă sau cu must steril. Cu ajutorul micropipetei sterile de 0,1 ml se picură în vasele Petri sterile corespunzător o picătură (0,05 ml) de suspensie, două şi trei. Apoi se toarnă din eprubete cîte 10 ml de must agarizat, topit şi răcit pînă la 40—45°C. Conţinutul vasului

se repartizează uniform pe toată suprafaţa lui şi se lasă să se închege pe o suprafaţă orizontală. Peste cîteva zile la suprafaţa agarului apar colonii de levuri, destul de depărtate una de alta, ca să fie posibilă reînsămînţarea lor fără a atinge cele vecine. Dacă coloniile sînt situate prea des, e necesar de repetat experienţa, sporind dizolvarea materialului iniţial.

Metoda lui Koch nu dă garanţie, că colonia aparţine anume unei singure celule. În lucrările ştiinţifice exacte această metodă nu e folosită. Ea e practicată numai în cazul separării unor genuri şi specii de levuri.

Metoda lui Lindner. Materialul iniţial se dizolvă cu must steril astfel, ca într-o picătură să se afle o singură celulă de levuri. Pe o lamelă sterilă se picură cu ajutorul unei peniţe de desen sterile 10 picături de suspensie. Lamela se răstoarnă pe o sticlă de preparare cu adîncitură; la fundul căreia se află apă sterilă. Pe margini lamela se unge cu parafină şi preparatul se microscopează. Picăturile ce conţin o singură celulă de levuri se conturează cu cerneală. Peste 2—3 zile de reproducere picăturile indicate se transferă în mediu nutritiv steril pentru reproducerea de mai departe.

Metoda lui Lindner are două modificări. Conform primei, picătura în care se află 2, 3 sau 4 celule e transferată cu ajutorul bulei de platină, umplută cu suc de struguri, pe mediu nutritiv solid în eprubetă, lăsînd o urmă cu bula pe mediu. Din fiecare celulă vor creşte colonii destul de îndepărtate una de alta, ca să poată fi reînsămînţate.

Conform celei de a doua, celulele pentru eliminarea levurilor selecţionate sînt luate din cultură tînără de 24 de ore. Suspensia se pregăteşte în apă sterilă, la care se adaugă soluţie de albastru de metilen dizolvată în raport de 1 : 10000. Se dizolvă pînă cînd într-o picătură rămîn 0—2 celule de levuri.

Pe o sticlă de preparare sterilă se pun picături de suspensie, care nu trebuie să depăşească mărimea orizontului vizual la mărirea de 150 ori, şi se microscopează.

Cînd într-o picătură nu sînt mai mult de 2 levuri, începe experienţa: pe cioburi de lamelă, diametrul cărora nu depăşeşte diametrul eprubetei, se pune cîte o picătură de suspensie şi se aranjează pe o sticlă de preparare sterilă. Dacă picătura conţine o singură celulă, ciobul, cu ajutorul pensetei sterile, e transferat în eprubeta cu mediu nutritiv steril pentru a se înmulţi. Siguranţa experienţei creşte, dacă suspensia e pregătită cu soluţie de 0,1% de sorbită.

Metoda lui Klinkgammer. Suspensia de levuri se dizolvă şi se picură pe sticla de preparare sterilă astfel, ca în orizontul vizual al microscopului la mărirea de 450 ori să fie văzute doar cîteva celule. Una dintre aceste celule este absorbită cu ajutorul capilarului şi e transferată în mediu nutritiv steril.

Eliminarea celulelor levurilor cu ajutorul despărţitorului lui Godiurua. Această metodă se bazează pe pulverizarea fină a microsuspensiei în formă de aerosol cu ajutorul dispozitivului, construit de Godiurua. În rezultat picăturile sînt atît de mici, încît nu pot să con-

ţină decît o singură celulă. Metoda a fost dovedită experimental.

Culturile selecţionate, indiferent de metoda prin care au fost eliminate, se păstrează la temperatura de 5°C. Peste fiecare 6 luni se face reînsămînţarea lor în must sau în soluţie de zaharoză de 10 %.

§ 3. Pregătirea maielei de levuri

Instituţiile care asigură întreprinderile de vinificaţie cu levuri selecţionate le expediază pînă la începutul sezonului de vinificaţie în formă de colonii pe medii nutritive solide sau în formă de sediment în medii nutritive lichide.

Dacă cantităţi nu prea mari de levuri ar fi introduse în vase mari cu must, atunci microorganismele străine, cantitatea cărora în must e însemnată, ar deprima levurile selecţionate. De aceea levurile selecţionate în prealabil se înmulţesc, astfel deprimînd microflora naturală. Prepararea maielei constă în sporirea treptată a masei biologice şi a activităţii celulelor levurilor.

La înmulţirea levurilor selecţionate e necesar de a respecta sterilitatea în scopul prevenirii infectării lor cu microbi străini.

Levurile selecţionate se prepară pe must steril. Pentru aceasta sucul de struguri proaspăt se filtrează prin filtru de hîrtie şi se încălzeşte pînă la fierbere. După răcire se filtrează din nou prin filtru de hîrtie dublu, se toarnă în baloane (2/3 din volum), se închid cu dopuri de vată şi se sterilizează în baia de apă timp de 10—30 minute.

Pentru a prepara o cantitate mare de must steril, se foloseşte mustul din pasteurizator sau se lasă să treacă prin el abur viu timp de 20 min.

Maiaua se pregăteşte în două etape: în condiţii de laborator şi de producere. La etapa de laborator volumul treptat se măreşte — de la o eprubetă pînă la 500 ml, apoi pînă la 3 l, 10 l şi 20 l. Temperatura mustului în timpul reînsămînţării nu trebuie să depăşească 25—28°C. Reînsămînţarea levurilor se efectuează în faza de fermentare tumultuoasă.

La etapa de producere maiaua se prepară în butoiaşe a cîte 300—350 l sau în aparat pentru levuri, se foloseşte mustul după limpezire cu un conţinut de anhidridă sulfuroasă nu mai mic de 100 mg/l.

Pe măsura consumului de maia în aparat se adaugă must limpezit şi sulfitat. Adăugarea mustului e permisă nu mai mult decît de 2—3 ori.

Maiaua se adaugă în must în aşa cantitate, ca levurile selecţionate să predomine asupra altor provocatori ai fermentaţiei şi într-un timp scurt să fie asigurată acumularea a 4 vol % de spirt, care previne dezvoltarea microorganismelor dăunătoare.

Se ştie că pentru dislocarea microflorei spontane într-un litru de must trebuie adăugat 100 mln de celule de levuri. Pentru asigurarea unei fermentaţii normale la începutul sezonului se introduc 3 % de

maia (după volum), mai tîrziu cantitatea ei se micşorează pînă la 2%, iar în a doua jumătate a sezonului — pînă la 1%.

În cazul prelucrării strugurilor bolnavi sau cu leziuni mecanice cantitatea maielei adăugate se măreşte pînă la 5%.

O întreprindere vinicolă mare consuma într-un sezon circa 3500—7000 dal de maia. Prepararea unui astfel de volum de maia prin metoda periodică e foarte dificilă. De aceea se recurge la metoda continuă. Maiaua se introduce în primul rezervor al bateriei de fermentaţie, unde se adaugă must proaspăt.

Apoi, cînd începe fermentaţia abundentă, o parte din levuri sînt pompate în rezervorul al doilea, de unde, tot în stare de fermentare abundentă, se pompează în al treilea, apoi în al patrulea. Cantitatea necesară pentru producere se ia din rezervorul în care levurile se află în starea cea mai activă — aceasta se stabileşte prin analize de laborator.

§ 4. Condiţiile ce asigură întrebuinţarea levurilor selecţionate

Pentru asigurarea purităţii fermentaţiei în vinificaţie se folosesc următoarele procedee: sedimentarea mustului, sulfitarea şi introducerea levurilor selecţionate.

Sucul de struguri proaspăt se limpezeşte prin sedimentare. Pentru a preveni fermentaţia, se adaugă anhidridă sulfuroasă. În urma sedimentării particulele în suspensie (bucăţele de pieliţă, ciorchini, miez, praf, cît şi unele microorganisme) sedimentează la fundul rezervorului, iar mustul limpezit este trimis la fermentare.

Sedimentarea poate fi înlocuită prin centrifugare, care accelerează limpezirea mustului, eliberîndu-l parţial de microfloră (durează cîteva minute, pe cînd sedimentarea — 18—24 ore).

Sulfitarea deprimă dezvoltarea microflorei. Introducerea levurilor selecţionate asigură puritatea fermentaţiei. În acest caz e binevenită folosirea federului, care apăra mustul de accesul de aer.

Acesta permite levurilor de a învinge microorganismele aerobe (bacteriile acetice şi levurile peliculare).

La prepararea vinurilor roşii cea mai potrivită e fermentaţia cu căciula scufundată, în care se pot dezvolta vertiginos bacteriile acetice şi alte microorganisme dăunătoare.

Cea mai raţională metodă de fermentaţie este folosirea levurilor selecţionate cu sedimentarea şi sulfitarea în prealabil a mustului. Această metodă dă rezultatele dorite, dacă sînt strict respectate următoarele cerinţe:

mustul pînă şi după sedimentare, cît şi boştina în cadă, să nu manifeste semne de fierbere;

doza anhidridei sulfuroase, introdusă în must în timpul sedimentării, să asigure deprimarea microflorei naturale; în dependenţă de aciditatea mediului şi starea strugurilor ea variază între 50—150 mg/l;

maiaua levurilor selecţionate, adaptate la anhidrida sulfuroasă, să fie în stare de fermentaţie abundentă;

în timpul introducerii maielei în must trebuie strict respectate regulile sanitaro-igienice în scopul preveniri infectării mustului cu microfloră străină;

temperatura fermentaţiei să fie mai mare de 12—15°C; în urma răcirii puternice mustul să fie încălzit, iar în urma încălzirii prea puternice — să fie răcit;

rasa levurilor selecţionate să posede capacitatea de concurenţă (factorul-chiller), ca să modifice fenomenele de competiţie cu microflora naturală în avantajul lor.

§ 5. Fermentaţia «supra-patru»

Fermentaţia «supra-patru» constă în selecţia levurilor prin intermediul spirtului.

Bacteriile, mucegaiurile, levurile sălbatice nu se pot dezvolta în mediul ce conţine 4 vol % de spirt, pe cînd levurile de vin în aşa mediu se dezvoltă normal. Reieşind din aceasta, în vinificaţie se foloseşte fermentaţia «supra-patru». Acest procedeu constă în adăugarea vinului nou sau vechi în mustul supus fermentaţiei, astfel ca amestecul realizat să aibă o tărie de minimum 4 vol % alcool. Fermentaţia amestecului se desfăşoară numai sub influenţa levurilor de vin.

Această metodă are un şir de priorităţi:

e exclusă influenţa microflorei străine sălbatice asupra levurilor de vin;

cantitatea spirtului obţinut e mai mare cu 0,6—1,2 vol %;

fermentaţia decurge liniştit, fără reţineri.

Procedeul este aplicat totuşi la scară redusă din cauza că necesită deplasarea unor cantităţi mari de vin, consum de energie etc.

§ 6. Rolul populaţiilor în vinificaţie

Mulţi cercetători arată, că fermentarea mustului în prezenţa unui complex de levuri dă rezultate mai pozitive în comparaţie cu fermentaţia în prezenţa unei singure rase. Levurile culturilor mixte fermentează mai multe glucide decît fiecare specie luată aparte. Cultivarea în comun a *Saccharomyces vini* şi *Hanseniaspora apiculata* contribuie la sporirea capacităţii de a forma spirt şi reducerea formării acizilor volatili în comparaţie cu rasa iniţială. Prin urmare, *Hanseniaspora apiculata,* care e un dăunător al fermentaţiei, într-un anumit raport cu levurile de vin (10 : 1) dă rezultate pozitive.

La studierea profundă a complexului levurilor de heres spaniole s-a constatat că în componenţa lor intră şi specia *Hansenula* — producător energic de eteri. Rezultatele experienţelor asupra fermentaţiei mustului cu levuri selecţionate şi cu complexul de levuri spaniole de heres, în care intră şi *Hansenula* în raport de 10 : 1, arată că fermentaţia provocată de complex sfîrşeşte mai repede, iar vinul e

apreciat mai înalt. Prezența speciei *Hansenula* accelerează formarea peliculei în procesul de heresare.

Fermentarea sucurilor de fructe și pomușoare cu amestec de diferite rase *Saccharomyces vini* duce la formarea unei cantități mai mari de spirt și la înnobilarea gustului și aromei vinului. Prezența în complex a levurilor sălbatice *Hanseniaspora apiculata* și *Torulopsis* contribuie la îmbunătățirea calității vinului, însă în urma cultivării mixte a *Saccharomyces vini* cu culturile sălbatice cele din urmă sînt eliminate.

Hibrizii, căpătați în urma încrucișării levurilor de vin cu cele sălbatice, păstrează capacitatea de a fermenta diferite zaharuri și energia de fermentație înaltă, cît și activitatea pectolitică, caracteristică unor levuri sălbatice.

Culturile hibride încep și termină fermentația cu 1—2 zile mai devreme decît levurile-mame, fermentînd complet zahărul. Vinurile se limpezesc mai repede. Vinurile, fermentate de hibrizi, atît după componența chimică, cît și după indicii calităților gustative, sînt mai nobile decît vinurile fermentate de levurile-mamă.

CAPITOLUL 4
METODELE DE INHIBIȚIE ALE LEVURILOR

§ 1. Noțiuni generale

Inhibiția microorganismelor, adică deprimarea parțială sau totală a activității lor, e necesară la diferite etape de preparare a vinului. Spre exemplu, în producerea sucurilor microflora trebuie complet lichidată; pentru fermentația de bază normală trebuie deprimate levurile sălbatice și bacteriile lactice, fără a reține dezvoltarea levurilor de vin. În toate cazurile e necesar de a preveni dezvoltarea unui șir de microorganisme, care provoacă bolile vinului, spre exemplu a bacteriilor acetice. Fermentația malolactică, provocată de bacteriile corespunzătoare, este admisă numai pentru vinurile tinere cu aciditate sporită. Fermentația alcoolică repetată e strict necesară la producerea vinurilor spumante și e inadmisibilă la producerea vinurilor dulci și demidulci etc.

Unele și aceleași metode de inhibiție și doze ale inhibitorilor acționează în mod diferit asupra diverselor microorganisme ale vinului. Spre exemplu, dozele mici (pînă la 100 mg/l) de anhidridă sulfuroasă deprimă complet activitatea vitală a bacteriilor acetice, neacționînd asupra dezvoltării levurilor de vin. Dozarea inhibitorilor în fiecare caz aparte depinde de scopul măsurii tehnologice date (deprimarea parțială sau completă a microflorei), de componența mediului (a vinului, sucului), adică de cantitatea spirtului, zahărului, substanțelor azotoase, valorii pH etc., cît și de concentrația organismelor în mediu.

E posibilă combinarea a cîtorva inhibitori. In acest caz doza

fiecăruia din ei poate fi micşorată. Acest procedeu e foarte important în vinificaţie, deoarece orice inhibitor, luat în cantităţi mari, poate să acţioneze negativ asupra proprietăţilor organoleptice şi a compoziţiei lui chimice. Folosind acţiunea combinată a inhibitorilor, ei pot fi aleşi astfel, ca să se completeze unul pe altul. Spre exemplu, acidul sorbic inhibează puternic dezvoltarea levurilor, iar asupra bacteriilor acţionează mai puţin, pe cînd acidul sulfuros are o acţiune inversă. Combinînd aceşti inhibitori în doze mici, e posibilă stabilizarea efectivă, mai ales a vinurilor demidulci. Metodele sus-numite sînt chimice, În afară de ele se mai folosesc şi metode fizice: încălzirea, răcirea, radurizarea, care duc la inhibiţia microflorei mustului şi vinurilor, cît şi la dezinfectarea încăperilor de producere.

§ 2. Metode fizice de inhibiţie

Tratarea vinului cu frig. În rezultatul aplicării ei sărurile tartrice, substanţele tanante, colorante, proteice şi pectice coagulează şi sedimentează, atrăgînd după sine şi unele microorganisme din vin— are loc cleirea vinului. Temperaturile joase (0—5°C) deprimă activitatea vitală a tuturor microorganismelor, dar nu le omoară, ci numai frînează activitatea enzimelor. Astfel, acţiunea de inhibiţie a frigului, spre deosebire de acţiunea căldurii, este temporară.

Tratarea cu frig se foloseşte larg, spre exemplu, la sistarea fermentaţiei alcoolice în producerea vinurilor demidulci.

Vinurile, în deosebi cele de masă, păstrate la temperaturi joase (10—12°C), mai puţin sînt supuse bolilor decît vinurile păstrate la temperaturi normale (18—20°C).

Tratarea vinurilor cu căldură. Tratarea vinurilor cu căldură este un procedeu larg folosit în vinificaţie pentru sterilizarea vinului, înnobilarea gustului şi accelerarea maturaţiei, atribuirea proprietăţilor specifice.

Temperaturile înalte (50—100°C) omoară toate microorganismele datorită denaturaţiei substanţelor lor proteice. Pentru inhibiţia sporilor, care sînt mai rezistenţi decît celulele vegetale, sînt necesare temperaturi înalte sau încălzirea mai de lungă durată.

Metoda de sterilizare a produselor alimentare prin încălzire (pasteurizare) se aplică şi la prepararea sucurilor şi vinurilor. Ţinînd cont de faptul că vinul este un mediu nu prea favorabil pentru dezvoltarea multor microorganisme (spirtul din vin este un inhibitor natural bun), durata încălzirii şi temperatura sînt mai joase decît pentru sucuri, fiind de 55—70°C cu o durată de 1—2 minute. Cu cît vinul conţine mai mult spirt şi acizi, cu atît temperatura poate fi mai joasă şi durata pasteurizării mai scurtă. Prin această metodă se tratează în fond vinurile cu o cantitate nu prea mare de spirt şi acizi, predispuse la boli bacteriene.

Iradierea (actinizarea). Acest procedeu de inhibiţie al microorganismelor (sterilizare rece) este comparativ nou (cercetările au început în anii 30 ai secolului curent). La baza lui stă capacitatea

undei dure (cu cît lungimea de undă e mai scurtă, cu atît unda e mai dură), emanate în timpul radiațiilor ultraviolete, infraroșii și gama, să omoare microbii. Doza letală (mortală) a radiației depinde nu numai de lungimea undei, ci și de specia microorganismului, de intensitatea radiației și de durata ei, de concentrația microorganismelor, de densitatea optică a mediului și de compoziția chimică a lui.

La baza radiației gama stă iradiera electromagnetică cu o lungime de undă foarte scurtă (mai puțin de 1 nm), emanată de nucleele atomilor agitați (este folosit, de obicei, cobaltul radioactiv ^{60} Co).

Radiația gama ca cea mai dură în doze considerabile (10—50 kJ/kg) acționează puternic asupra compoziției chimice și a proprietăților vinului: sporește cantitatea aldehidelor, se schimbă culoarea vinului. La doze mai ridicate pot apărea nuanțe de hidrogen sulfurat și mercaptane, iz de șoarece, vinul devine tulbur. Toate acestea dispar în rezultatul păstrării vinului (peste 2—3 luni). Resultate pozitive se capătă în urma acțiunii comune a razelor gama (500 mii — 1 mln J/kg) și a acizilor sorbic sau sulfuros în doze nu prea mari.

Rezistența diferitor microorganisme față de radiația gama diferă și depinde de specie, chiar și de rasă. Bacteriile lactice sînt mai rezistente decît levurile. Dintre ele cele mai rezistente sînt *Hanseniaspora* și *Torulopsisi.*

Prezența zahărului în mediu atenuează acțiunea radiației gama.

Radiația ultravioletă este o radiație mai puțin dură decît gama și are lungimea de undă 10—380 nm. Se întrebuințează la sterilizarea sucurilor și vinurilor, cît și a încăperilor, folosind în acest scop lampa bactericidă. La producerea vinurilor albe de masă sînt nimicite un șir de microorganisme ce nu au acțiune negativă asupra calității vinului. Rezultate pozitive dă acțiunea combinată a acidului sorbic și radiația ultravioletă.

Limpezirea. Limpezirea vinurilor și sucurilor prin diferite metode (sedimentare, cleire, filtrare, centrifugare e însoțită, de regulă, de reducerea simțitoare a numărului celulelor de microorganisme, prezente în lichid, din cauza separării lor împreună cu sedimentul. Prin urmare, are loc atenuarea și slăbirea acțiunii lor. În unele cazuri (filtrarea prin plăci de sterilizare) microflora poate fi înlăturată complet.

§ 3. Metode chimice

Microorganismele pot fi inhibate, folosind acizii sulfuros și sorbic sau alte substanțe cu acțiune analogică.

Acidul sulfuros. În stare găzoasă sau lichidă acidul sulfuros era întrebuințat în vinificație încă pe la sfîrșitul secolului trecut. Practic e dovedit că dozele lui moderate (circa 100 mg/l) nu influențează negativ asupra calității vinului. Astfel de doze însă adesea nu sînt suficiente pentru inhibiția microorganismelor. Mărirea lor în schimb e periculoasă pentru sănătatea consumatorilor. De aceea legislația

multor țări limitează cantitatea acidului sulfuros, folosită în vinificație.

Trebuie ținut cont și de faptul că anhidrida sulfuroasă, introdusă în must sau vin, se dizolvă, formînd acid sulfuros (H_2SO_3), care momentan intră în reacție cu părțile componente ale mustului și vinului, aldehidele, zaharurile, substanțele colorante etc. Se creează două forme ale acidului sulfuros: liberă și fixată, care se află în echilibru dinamic. Cu timpul, cea mai mare parte a acidului sulfuros fixat e de 10 ori mai slabă decît a celui liber, doza cantității totale a acidului sulfuros e limitată — 200 mg/l, iar a formei libere — 20 mg/l.

Acidul sulfuros decolorează vinurile, în special cele roșii, înrăutățește aroma și gustul lor. El frînează procesele de oxidare, în special acțiunea enzimelor de oxidare, de aceea se recomandă a fi folosit în cazul cînd vinul e predispus la casarea brună (oxidazică).

În procesul fermentației alcoolice cea mai mare parte a acidului sulfuros se evaporă împreună cu CO_2.

Trebuie menționat faptul că cantitatea acidului sulfuros se limitează doar în vinul gata. În procesele de vinificație cantitatea lui poate fi mult mai mare.

În timpul sezonului de vinificație, uneori e necesar de a conserva pentru un timp mai îndelungat mustul. În acest scop se folosesc cantități mari de acid sulfuros (300—400 mg/l). Mustul sulfitat poate fi întrebuințat la liofilizare, desulfitare sau cupaj.

Cele mai sensibile la acțiunea acidului sulfuros sînt bacteriile acetice, mai puțin sensibile — levurile sălbatice și aproape nesensibile — levurile de vin.

Acidul sorbic ($CH_3—CH=CH—CH=CH—COOH$) sau sarea lui de kaliu (sorbatul de kaliu) solubilă se folosește în vinificație ca conservant (stabilizator) în producerea vinurilor demidulci în doză de 100—200 mg/l. Dozele mai mari de acid sulfuros au acțiune nefavorabilă asupra gustului («nuanțe de mușcată»).

Acidul sorbic inhibează în special microflora levurilor și foarte slab bacteriile. De aceea acțiunea combinată a acizilor sorbic și sulfuros dă un efect de inhibiție pozitiv.

Cu cît e mai tare vinul, cu atît doza acidului sorbic folosit e mai mică. Acidul sorbic poate fi întrebuințat și la producerea sucurilor dulci de fructe și pomușoare, în doză mai mare (pînă la 1 g/l) el poate fi folosit paralel cu tratarea cu căldură moderată.

În cazul cînd e imposibilă protejarea vinului de contactul cu aerul (suprafața deschisă a vinului provoacă oxidarea nedorită a lui și poate duce la dezvoltarea microflorei aerobe), se recomandă aplicarea suspensiei de protecție a vinului (S. P. V.), activantul căreia este metabisulfitul de caliu ($K_2S_2O_5$), care, descompunîndu-se treptat, elimină acid sulfuros. Acest preparat reprezintă un lichid mobil cu nuanțe gălbui și cu miros slab de acid sulfuros. Durata acțiunii S.P.V. e de cel puțin 5 ani în cazul adăugirii unor porțiuni mici o dată — de două ori pe an.

Alți inhibitori. În vinificație se mai folosesc un șir de inhibitori pentru spălarea vaselor sau dezinfectarea încăperilor: butoaiele goa-

le pentru vin înainte de sezonul de vinificaţie se afumă cu sulf sau se umplu cu apă sulfitată; vasele şi conductele de sticlă, mai ales după contactarea cu vinuri bolnave, se prelucrează cu soluţie de antiformină, permanganat de caliu, var de înălbit, formalină, conductele de sticlă se dezinfectează cu soluţie de 0,5% de catapină. După prelucrarea cu dezinfectanţi toate acestea se spală bine cu apă, controlînd apoi dacă nu au rămas urme de dezinfectanţi.

Antisepticii experimentaţi la etapa actuală, dar neautorizaţi legal.

Numărul substanţelor antiseptice care au fost propuse pentru stabilizarea biologică a vinurilor este mare. Unele dintre ele au atras mai mult atenţia, socotindu-se că ar putea substitui anhidrida sulfuroasă.

Deşi lipsiţi de proprietăţi antioxidante, esterii acidului p-hidroxibenzoic cu alcoolii metilic, n-propilic şi n-heptilic, mai ales în amestec, manifestă o netă acţiune inhibitoare atît asupra înmulţirii, cît şi a activităţii microorganismelor, fără a determina miros particular, toxicitatea lor crescînd cu greutatea moleculară. Folosirea lor în practică nu a fost însă autorizată.

Cu toate că levurile sînt mai rezistente la antibiotice decît bacteriile, dar fiind dimensiunile mai mari ale celulelor şi grosimii pereţilor, s-au extras antibiotice care posedă şi proprietăţi antifungice, cum sînt actidiona, antimicina A, micosubtilina, micostatina ş. a.

S-a considerat şi întrevăzut ca posibilă prin antibiotice identificarea unui antifermentativ specific contra fermentaţiei alcoolice, cu funcţie distinct diferită de cea selectivă a antisepticilor, majoritatea polivalenţi, în sensul că acţionează fără distincţie asupra unei game mari de bacterii, devenind astfel nocive organismului uman. Experimentele mai recente, în care s-au pus mari speranţe, au arătat însă că antibioticele nu acţionează în mod egal asupra genurilor şi speciilor de levuri: unele din acestea sînt foarte sensibile, altele suportă concentraţii ridicate. Folosirea continuă, mai îndelungată, face ca unele din microorganismele combătute să devină rezistente prin obişnuinţă. În ansamblu încercările de a folosi aceste substanţe pentru stabilizarea biologică a vinurilor nu au dat satisfacţia scontată. La rîndul lor, igeniştii, din legitimă prudenţă, nu avizează favorabil aplicarea antibioticelor în vinificaţie şi în general în domeniul alimentar.

Vitamina K_5, component al complexului vitaminei K cu rol în coagularea sîngelui, este în acelaşi timp în antiseptic puternic, acţionînd atît asupra levurilor, cît şi a bacteriilor acetice, dar nu şi a celor lactice. Substanţa este solubilă în apă, dar în această formă se oxidează uşor; în comerţ se găseşte în soluţie glicopropilenică în prezenţa de 0,15% metabisulfit. În must este inactivă. O cantitate de 2—3 g la hl este însă suficientă pentru a stabiliza un vin dulce;

această doză nu poate fi depăşită, căci apar fenomene de oxidare, datorită cărora vinul capătă gust de maderizat. Reiese necesară prezenţa unei substanţe antioxidante (SO_2) pentru a conserva activitatea acestui antiseptic. A fost preconizat binomul vitamina K_5 şi vitamina C, ce ar acţiona sinergic, vitamina B_6 din contra tinde să neutralizeze acţiunea vitaminei K_5 (G. Garolgio, 1963). În practică s-a constatat că intervine o înnegrire a culorii vinului alb, tratat cu vitamina K_5. Substanţa nu a fost autorizată legal.

Expusă mai la puţine suspiciuni din partea igieniştilor, folosirea notatinei (R. Lambion, 1963) pleacă de la un alt considerent. Cunoscînd că înmulţirea levurilor, şi drept consecinţă fermentarea, este direct legată de prezenţa oxigenului, o enzimă, care ar fi capabilă să combine oxigenul cu un substrat oarecare şi al cărei echilibru de reacţie ar lăsa o cantitate de oxigen liber foarte mică în butelia de vin închisă, ar putea fi eficace pentru stabilizarea biologică a vinurilor. Este cazul glucozooxidazei, care în amestec cu catalaza constituie notatina şi este extrasă din mediile de cultură ale mucegaiurilor *Penicillium notatum* şi *P. amagasakiense*. Glucoza, substratul acceptor al oxigenului din mediul viu, este transformată de enzima glucozo-oxidază în acid gluconic şi apă oxigenată. În continuare, cataliza transformă H_2O_2 în apă şi oxigen, care în continuare e acceptat de glucoză. În ansamblu reacţia reprezintă transformarea a două molecule de glucoză cu o moleculă de oxigen, în două de acid gluconic, substanţă ce nu prezintă nici o caracteristică organologică de oxidare. Pentru 6 ml oxigen ar fi suficientă cantitatea de 0,1 g glucoză, cum însă viteza de reacţie depinde şi de concentraţia în glucoză, pentru a obţine un efect suficient de rapid, trebuie cel puţin 1 g glucoză la litru. Adăugarea a 5 mg notatină într-un litru de vin îmbuteliat care conţinea şi 5 g glucoză şi 35 mg SO_2 liber a prevenit refermentarea în încercările efectuate. Rezultatele unor încercări mai ample pe vinuri albe şi roze cu glucoză reziduală (C. S. Ough, 1975) arată, că cea mai mare parte din H_2O_2, formată prin oxidarea glucozei, este redusă de SO_2 înainte de a fi descompusă de catalază. Dacă totuşi conţinutul în SO_2 este scăzut, catalaza este necesară spre a preveni brunificarea. Condiţiile ce par să permită menţinerea la maximum a calităţii vinului prin tratamentul enzimatic sînt un pH scăzut şi un conţinut mediu în SO_2. Aplicarea pe scară largă arată însă că notatina provoacă o înnegrire a coloraţiei vinurilor albe (M. Amerine şi colab., 1970). Pe de altă parte, folosirea SO_2 pentru prevenirea bolilor anaerobe ar rămîne în continuare necesară şi pentru notatină.

Alţi antioxidanţi. Pentru a substitui acţiunea antioxidantă a anhidridei sulfuroase, în afară de acidul ascorbic au fost studiaţi şi se studiază un număr important de substanţe capabile să se combine uşor cu oxigenul. Se recurge la amestecuri complexe de substanţe, cum este nonatina menţionată la antiseptici şi care este şi ea un antioxidant, sau amestecul constituit din pirosulfit de potasiu + acid ascorbic + glutation (G. Garaglio, 1968).

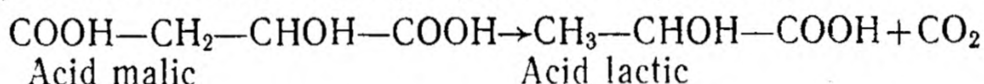
O atenţie tot mai mare se acordă protejării constituienţilor natu-

rali ai vinului, cu acţiune reducătoare. Un important rol antioxidant a fost atribuit în ultimul timp reductonelor, substanţe organice cu funcţie dienolică, ce poate fi dehidrogenată sub influenţe oxidative, pentru a da funcţie carbonil. Aceste substanţe aromatice sau alifatice, provenind din strugure, pot fi sesizate în prezent numai ca grupe de substanţe prin dozări iodometrice şi pot fi determinate global prin metoda de dozare a acidului ascorbic (F. Paul, 1963). Reductonele naturale ale recoltei nesulfitate sînt în parte sau total oxidate şi de aceea se prezintă sub formă puţin solubilă; din contra, ele sînt transformate de acidul sulfuros în formă hidroxilică şi trec astfel mai uşor din faza solidă, în care se află în ţesuturile bobului de strugure, în faza lichidă. Cum reductonele par să aibă raporturi pozitive cu proprietăţile organoleptice ale vinurilor, este de dorit un conţinut ridicat al lor în vinuri.

CAPITOLUL 5
PROCESELE LEGATE DE DEZVOLTAREA MICROORGANISMELOR ÎN VIN

§ 1. Dezacidifierea biologică a vinurilor

Dezacidifierea biologică a vinurilor sau fermentarea malolactică este un proces deseori dorit în vinificaţie. El decurge, cel mai frecvent, în vinurile tinere, care conţin acid malic. Provocatori clasici ai acestui proces sînt socotiţi cocii heterofermentativi *Bact gracile (Leuconostos gracile)*, cît şi cocii heterofermentativi ai genului *Micrococcus (Pediococcus)*. Datorită activităţii vitale a acestor bacterii, acidul malic bibazic se transformă în acid lactic monobazic şi se degajă dioxid de carbon, ulterior atît aciditatea titrabilă[1], cît şi aciditatea activă scad (creşte valoarea pH-ului).



$$COOH{-}CH_2{-}CHOH{-}COOH \rightarrow CH_3{-}CHOH{-}COOH + CO_2$$

Acid malic — Acid lactic

Dintr-un gram de acid malic se formează 0,67 g de acid lactic. Transformarea acidului malic în lactic nu e însoţită de degajare de energie; prin urmare, bacteriile au nevoie de o sursă suplimentară de energie. Ca astfel de sursă pot servi substanţele ce conţin azot, cît şi zahărul rezidual. Fermentarea malolactică începe imediat după cea alcoolică, cînd vinurile tinere mai conţin o cantitate suficientă de zahăr pentru satisfacerea cerinţelor bacteriilor.

În urma descompunerii 1 g de acid malic cantitatea substanţelor

---

[1] Aciditatea titrabilă este suma acizilor liberi şi a sărurilor acide, capabile de a fi titrate cu bază alcalină. Ea se exprimă în grame pe un litru (recalculat în acid tartric) sau în miligrame — echivalenţi la 1 l, ceea ce corespunde cantităţii de bază alcalică normală în mililitri, necesară pentru neutralizarea 1 l de suc de struguri (pentru acidul tartric 7,5 g/l=100 mg — echivalenţi/l).

extractive se micşorează cu 0,32 g. Rezultă că, paralel cu acidul malic, se descompun în cantităţi neînsemnate glicerina, acidul citric, aminoacizii şi se formează, în afară de acid lactic, o cantitate nu-prea mare de acid acetic.

Acitivitatea bacteriilor depinde în mare măsură de prezenţa substanţelor stimulente în mediu: vitamine şi substanţe de creştere ca biotina, acidul aminobenzoic, acidul pantotenic, riboflavina, lactoflavina etc. Un rol important îl joacă şi aminoacizii: alanina, arginina, acidul asparagic, acidul glutaminic, glicocolul, serina.

Sărurile manganului, magneziului, sulfului şi kaliului activează fermenţii, participanţi în descompunerea acidului malic.

Asupra rapidităţii descompunerii acidului malic manifestă o acţiune esenţială aciditatea activă a vinului. Spre exemplu, în vinurile din Moldova dezvoltarea bacteriilor dezacidificatoare e posibilă la pH-ul 2,7—2,8. Însă aciditatea activă înaltă încetineşte descompunerea acidului malic. Aşa, în vinurile cu pH-ul 3,24 descompunerea acidului malic sfîrşeşte peste 1,5 luni după terminarea fermentaţiei alcoolice, iar în vinurile cu pH-ul 2,8—abia peste 6 luni.

N. I. Buruian din 120 de tuplini ale bacteriilor lactice a ales 6 mai acidorezistente, care au capacitatea de a descompune acidul malic, cînd pH-ul e 3,06.

Frînarea acţiunii acizilor asupra bacteriilor poate fi micşorată considerabil în urma îmbogăţirii vinurilor cu autolizate levuriale.

Asupra vitezei procesului de fermentaţie malolactică o mare influenţă are temperatura. Temperaturile joase (mai mici de 10°C), cît şi cele înalte (mai sus de 35°C) frînează procesul de dezacidifiere. Însă, dacă bacteriile au început să se înmulţească la temperatura optimă (15—18°C) şi procesul de dezacidifiere a început, atunci el poate să continuie chiar şi la temperatura de 5°C.

Bacteriile fermentaţiei malolactice sînt mult mai sensibile faţă de spirt, decît bacteriile lactice — provocatori borşirii vinurilor tari. Dacă concentraţia spirtului de 10—12 vol % nu stinghereşte activitatea vitală a bacteriilor dezacidificatoare, atunci cantitatea spirtului mai mare de 14—15 vol % frînează brusc metabolismul lor.

Taninul strugurilor oprimă puternic activitatea bacteriilor dezacidificatoare datorită capacităţii lui de a absorbi substanţele proteice şi, astfel, bacteriile sînt lipsite de substanţele biotice necesare. O activitate bactericidă şi mai puternică posedă taninul de stejar.

Un factor fizico-chimic principal, care condiţionează dezacidifierea biologică, este potenţialul de oxidoreducere. Cu cît potenţialul de oxidoreducere e mai jos, cu atît mai activ se dezvoltă bacteriile şi mai intens se petrece dezacidifierea biologică. Prin aceasta se şi explică trecerea mai rapidă a fermentării malolactice a vinurilor în rezervoare ermetice mari decît în butoaie.

Bacteriile fermentării malolactice sînt foarte sensibile la anhidrida sulfuroasă: în cantităţi mai mari de 50 mg/l ea frînează dezvoltarea bacteriilor, mai mult decît atît, cu cît e mai înaltă aciditatea vinului, cu atît anhidrida sulfuroasă mai puternic îşi manifestă

proprietățile de antiseptic. De aceea anhidrida sulfuroasă se folosește pentru dirijarea acestui proces.

Dezacidifierea biologică în vinurile cu aciditatea joasă este un proces periculos și inadmisibil, deoarece poate înrăutăți gustul vinului sau chiar îl poate altera complet. Pentru prevenirea acestui proces sînt necesare următoarele măsuri: sedimentarea îndelungată a mustului cu o doză de sulfitare de 120—150 mg/l; tragerea vinului de pe drojdii imediat după fermentația totală a zahărului; sulfitarea suplimentară a vinului pînă la 100—150 mg/l în dependență de aciditate; sporirea acidității vinului; păstrarea vinului la temperaturi joase (8—10°C).

Dezacidifierea biologică a vinurilor de șampanie e necesară atunci, cînd ele posedă surplus de aciditate. Prezența bacteriilor dezacidificatoare în materialele de șampanie frînează activitatea de fermentație a levurilor, duce la formarea măștilor și poate cauza tulburarea șampaniei gata.

Pentru vinurile de masă cu aciditatea sporită dezacidierea biologică e un proces dorit și util. Vinurile devin mai moi, mai armonioase, mai pline și maturate, în ele se dezvoltă aroma de maturare.

Dirijarea dezvoltării și activității vitale a bacteriilor lactice în vin poate fi pasivă și activă. Dirijarea pasivă constă în controlul dezacidifierii începute spontan cu scopul de a o stimula sau de a o înăbuși. Dirijarea activă a dezacidifierii biologice se realizează prin introducerea în vin a culturilor selecționate de bacterii lactice. Aici e necesar controlul chimic și biologic sistematic asupra descompunerii acidului malic. Peste fiecare 10 zile se controlează aciditatea titrabilă a vinului și se urmărește cum decurge înmulțirea bacteriilor prin microscopare. Cînd aciditatea scade cu 1—2 g/l, se socoate că dezacidifierea a început și atunci controlul se petrece mai des, peste fiecare 4—5 zile. Cînd aciditatea titrabilă scade pînă la 8 g/l, se apreciază prezența acidului malic în vin prin metoda cromatografică. Dacă acidul malic lipsește în vin și aciditatea titrabilă a scăzut pînă la 6,8 g/l, procesul este oprit prin sulfitare adăugătoare — cîte 100—120 mg/l cu cleirea și filtrarea ulterioară, astfel ca vinul să fie eliberat de bacterii. Contactul de mai departe a vinului cu bacteriile e periculos, deoarece bacteriile în lipsă de acid malic sînt nevoite să consume glicerina, acidul citric, substanțele cu azot din vin, formînd acizi volatili, care înrăutățesc gustul vinului.

§ 2. Tulburarea vinurilor

Tulburările levuriale. Tulburările levuriale sînt legate de prezența în vin a celulelor de levuri, cît și de starea vinului și de condițiile de păstrare. În producere și în sfera de consum deseori se observă că vinul cristalin, îmbuteliat în sticle, de curînd își pierde luciul, se întunecă, apoi se tulbură, iar la fundul sticlei se depune un sediment. După tulburarea precipitatului el sedimentează foarte lent.

Prin microscopare s-a stabilit, că fermentația repetată a vinurilor și tulburarea lor sînt provocate de prezența în vin a unui grup de

organisme levuriale diferite. Ele pot nimeri în vin (infectarea repetată cu levuri) de pe utilajul de vinificație, de pe inventar, vase, de pe diferite materiale și din pivnițe sau pot rămîne în vin după fermentație (o parte din microflora primară a mustului).

Prezența în vinurile seci a zahărului rezidual nefermentat (în vinurile tulbure se conține de la 0,07 pînă la 0,95% de zahăr), a oxigenului, cu care vinurile se îmbogățesc în urma diferitelor procedee tehnologice (umplerea, pritocul, filtrarea, îmbutelierea etc.), creează condiții favorabile pentru dezvoltarea organismelor levuriale.

Se știe că în lipsa cantității necesare a oxigenului levurile nu se dezvoltă în vin, chiar și în prezența unor cantități mari de zahăr. Îmbogățirea vinului cu oxigen contribuie nu numai la înviorarea levurilor deprimate din vin, dar și la trecerea unor specii de levuri, în special a celor peliculare, în faza de oxidare. În această fază levurile oxidează spirtul și acizii vinului.

În majoritatea cazurilor tulburarea e provocată de înmulțirea levurilor peliculare *Candida mycoderma, Pichia, Hansenula, Brettanomyces,* rareori de *Saccharomyces oviformis* și numai în cazuri excepționale de *Saccharomyces vini.* Cercetătorul francez Peino a stabilit, că în urma fermentației sucurilor cu un conținut mare de zahăr levurile de vin *Saccharomyces vini* pot produce numai 13—14 vol % de spirt, iar fermentația ulterioară e provocată de rasele speciei *Saccharomyces oviformis,* care-s capabile de a forma peste 18 vol % de spirt. Peino a mai stabilit, că anume această specie de levuri e capabilă să rămînă timp îndelungat în vin (luni sau chiar ani) într-o stare activă și să cauzeze reînceperea fermentației și tulburării. Anume ele deseori provoacă fermentația repetată în vinurile tinere roșii.

Cauza reînceperii fermentației în vinurile albe sulfitate sau în vinurile îndulcite cu must sulfitat sînt levurile specifice sulfitorezistente *Sacch. Ludwigii.* În vinurile dulci cu tăria de pînă la 12 vol %, în care fermentația a fost sistată artificial prin sulfitare, fermentația repetată poate fi provocată de levurile *Sacch. acidifaciens.*

În pivnițele umede printre mucegaiuri se află ciuperca levurială *Brettanomyces.* Ea, de obicei, se alimentează cu vapori de spirt, care se evaporă din vin în urma diferitelor procedee tehnologice. Dar, nimerind în vin, ea se dezvoltă și îl tulbură, formează acizi volatili și-i dă un iz de șoarece.

Măsurile profilactice împotriva tulburărilor levuriale sînt:

fermentația deplină a vinurilor seci cu folosirea celor mai raționale metode de fermentație (sedimentarea și sulfitarea mustului, folosirea levurilor selecționate);

îndeplinirea tuturor procedeelor tehnologice fără acces de aer (umplerea, pritocul, filtrarea, îmbutelierea);

apărarea vinului de infecția levurială repetată;

crearea condițiilor de temperatură normală pentru păstrarea vinului.

Pentru căpătarea vinurilor de masă rezistente la tulburările microbiene se aplică sterilizarea la rece şi sulfitarea.

Tulburările bacteriane. Bacteriile dezacidificatoare pot duce la tulburarea vinurilor albe la sticlă. Dezacidifierea biologică decurge stihiinic şi spontan, cu o viteză mai mare sau mai mică, în diferite vinuri. Astfel, dacă acest proces n-ar fi reglat, dezacidifierea ar avea loc acolo, unde nu e dorită, şi ar putea să nu se petreacă acolo unde e extrem de necesară.

Dacă vinurile tinere la butoi cu aciditatea mărită, sulfitate excesiv, sînt trase de pe drojdii devreme, atunci bacteriile se dezvoltă extrem de lent şi, astfel, ele nu pot provoca fermentarea malolactică. Aşa vinuri înainte de îmbuteliere, chiar şi după multe procedee tehnologice (cleire, filtrare), nu pot fi eliberate complet de bacterii.

Ulterior, în urma sulfitării insuficiente, datorită temperaturii favorabile şi prezenţei acidului malic, bacteriile îşi reîncep activitatea în vinurile la sticlă. Vinurile îşi pierd luciul şi limpezimea, sînt opalescente sau chiar se tulbură. La fundul sticlei se depune un sediment şi vinurile îşi pierd aspectul comercial.

Pentru prevenirea tulburărilor bacteriene a vinurilor cu un conţinut mare de acid malic, ele în prealabil trebuie să fie supuse fermentaţiei malolactice, iar după terminarea ei să fie eliberate de bacterii.

§ 3. Bolile vinurilor

In vinuri se întîlnesc stări anormale drept consecință a transformării sau descompunerii unui sau mai multor componente ale lor, prin acţiunea directă a microorganismelor. Apărînd componente noi, care schimbă culoarea, gustul şi mirosul, putînd face vinul chiar impropriu pentru consum, se suspectează prezenţa unei boli a vinului.

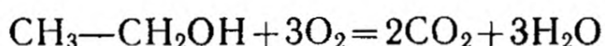
Floarea vinului. Este una dintre cele mai răspîndite boli ale vinurilor. Iniţial la suprafaţa vinului apar pete albii fine, izolate, avînd aspect mat şi uleios, apoi, pe măsură ce boala avansează, îşi schimbă culoarea în alb, se îngroaşă şi se întind, unindu-se între ele. Astfel toată suprafaţa vinului se acoperă cu o pieliţă albă, destul de groasă. Masa mare de celule, formate la suprafaţa vinului, cade cu timpul la fundul recipientului, iar la suprafaţă se formează noi straturi de celule.

Paralel cu progresarea bolii, vinul îşi schimbă aspectul, devenind opalescent; se observă degajări de CO_2, se sesizează mirosuri străine neplăcute, gustul vinului devine fad şi neagreabil.

Boala se datorează activităţii levurilor micodermice, ce aparţin mai multor genuri: *Candida, Pichia, Hansenula*. Aceste levuri sînt foarte avide de oxigen, motiv pentru care nu se dezvoltă în timpul fermentaţiei alcoolice şi nici în cazul cînd vinul este ferit de contactul cu aerul, cum se întîmplă în vasele complet pline sau în cele la care spaţiul gol de deasupra vinului este ocupat de anhidrida sulfuroasă, ori de un gaz inert (CO_2, argon, azot), sau cînd suprafaţa

vinului este separată de aerul din vas cu un strat de ulei vegetal inodor (de exemplu, uleiul de măsline).

În scopul de a-şi procura energia necesară proceselor vitale şi pentru a asigura hrana celulelor noi ce se formează, levurile micodermice descompun şi consumă substanţele componente ale vinului: mai întîi alcoolul, apoi acizii organici, glicerolul ş. a. In acelaşi timp rezultînd substanţe cu miros foarte neplăcut, mai ales acid butiric şi substanţe cu reacţie alcalină. Reacţia globală care exprimă metabolizarea alcoolului etilic în dioxid de carbon şi apă se prezintă astfel:



$$CH_3—CH_2OH+3O_2=2CO_2+3H_2O$$

Aceşti agenţi se dizolvă mai ales în vinurile mai puţin alcoolice (aproximativ 11 vol % alcool), cu aciditate fixă redusă şi cînd temperatura în pivniţă, unde sînt depozitate vinurile, depăşeşte 12°C. Activitatea levurilor privind descompunerea şi consumarea componentelor vinului odată începută continuă cu o şi mai mare amploare, pînă cînd vinul devine un lichid apos, cu gust şi miros neplăcut. Aceasta ca urmare a faptului că alcoolul scade continuu, aciditatea se reduce prin neutralizarea acizilor de către substanţele alcaline produse de levuri, iar acidul carbonic ce se degajă în urma proceselor de descompunere aderă la celulele voalului şi le ţine în contact cu aerul de la suprafaţa vinului, de unde îşi iau oxigenul necesar creşterii şi reproducerii.

In pelicula ce se formează la suprafaţa vinului bolnav, se mai poate semnala, printr-un examen microscopic, şi prezenţa întîmplătoare a levurilor facultativ peliculare din speciile *Saccharomyces oviformis, Saccharomyces bayan,* şi mai ales din genul *Brettanomyces,* ultimele nefiind levuri de tip pelicular.

P r e î n t î m p i n a r e a a p a r i ţ i e i b o l i i se realizează înlăturînd condiţiile ce favorizează creşterea şi reproducerea levurilor care o produc cum ar fi:

suplinirea deficitului de aciditate fixă cu adaos de acid tartric pînă la 1,5 g/l (în fază de must) sau cu acid citric pînă la 0,5 g/l (în fază de vin);

recipientele cu vin se vor ţine tot timpul pe plin;

temperatura aerului din pivniţele de depozitare şi maturare a vinurilor să nu depăşească 12°C;

în cazul în care din diferite motive a apărut golul la recipientele cu vin, care nu se poate lichida prin introducerea de vin cu aceleaşi caracteristici de compoziţie şi însuşiri olfactogustative, se apelează la utilizarea gazelor inerte (CO_2, argon, azot), care împiedică dezvoltarea levurilor;

separarea vinului din recipient de aerul ce se găseşte în golul format printr-o peliculă de ulei vegetal inodor;

evitarea îmbolnăvirii de floare a vinurilor deja îmbuteliate se realizează prin efectuarea unei dopuiri perfecte, iar golul din gîtul buteliilor să fie cît mai mic (1—2 ml). Poziţia buteliilor în timpul păstrării trebuie să fie cea orizontală. Imbutelirea la cald, precedată

de condiţionarea vinului cu acid sorbic sau pirocarbonaţi dialchilici, asigură cea mai bună protecţie.

Tratamentele curative sînt în funcţie de stadiul în care se află boala. La începutul ei vasul are golul mic, şi pelicula formată din celulele levurilor, la suprafaţa vinului, este încă subţire. Cu ajutorul unei pîlnii, gîtul căreia ajunge în vin (sub pelicula formată), se toarnă un vin mai alcoolic ca cel din vas, pînă cînd toată pelicula iese în afară cu vinul ce se scurge din vas. Vrana, dopul şi porţiunile de doagă, unde s-a scurs vinul cu tot cu peliculă, se curăţă cu o cîrpă îmbibată mai întîi în soluţie de dioxid de sulf, apoi de alcool. Se reglează aciditatea vinului, după care se asigură acestuia, pentru protecţie antioxidantă, cantitatea de dioxid de sulf necesară.

Dacă boala abia a început şi golul format în vas este mare, vinul se trage din vas prin canal (cu precauţie, ca pelicula să rămînă in vas) în alt vas curat şi dezinfectat, după care se practică aceleaşi îngrijiri ca mai sus.

In cazul cînd boala a progresat, iar gustul şi mirosul vinului nu au fost definitiv denaturate (adică pelicula îngroşată s-a scufundat deja în vin), se recurge la pasteurizarea vinului, după care se cupajează cu un alt vin mai alcoolic şi sănătos, în scopul corijării gustului. Dacă nu există posibilităţi de pasteurizare, vinul se poate filtra cu un filtru sterilizator. In lipsa acestuia se recurge la operaţiunile de cleire cu bentonită şi gelatină, iar după limpezire vinului i se corectează aciditatea fixă, se cupajează cu alte vinuri mai alcoolice şi sănătoase, după care se pune în consum. A lua aminte că toate operaţiile indicate mai sus se realizează sub protecţia dioxidului de sulf.

Vasele în care au fost depozitate vinurile afectate de floare se spală cu apă fierbinte sau se dezinfectează cu aburi fierbinţi în vederea distrugerii levurilor.

Dacă boala este intr-un stadiu prea avansat, gustul şi mirosul vinului sînt puternic afectate, se recurge la operaţiunea de distilare în vederea recuperării alcoolului.

Trebuie subliniat faptul că levurile ce produc floarea vinului sînt adoptabile la doze mari de dioxid de sulf (mediu sulfitic). De aceea după apariţia bolii dozele masive de SO_2, ce se recomandă uneori (peste 300 mg/l), nu mai sînt eficiente.

Oţetirea vinului. Este una din bolile microbiene cele mai periculoase, ca urmare a transformărilor pe care le produce, dar şi a rapidităţii cu care se pot contamina vinurile atunci cînd agenţii patogeni găsesc întrunite condiţiile prielnice.

In general această boală apare numai atunci cînd vasele cu vin nu sînt complet pline şi nu se respectă o riguroasă igienă vinicolă.

Agenţii patogeni ai oţetirii vinului sînt bacterii din genul *Acetobacter*. La inceput boala face ca la suprafaţa vinului să apară un voal subţire şi transparent. Pe măsură ce boala avansează, voa-

lul se îngroaşă şi se cutează, avînd culoarea albă-cenuşie. In funcţie de speciile de bacterii care acţionează, pelicula formată la suprafaţa vinului poate fi groasă, gelatinoasă, mucilaginoasă etc., iar pe măsură ce boala avansează, din peliculă se desprind porţiuni ce se depun la fundul recipientului, alcătuind «cuibul oţetului».

Bacteriile care provoacă oţetirea vinului se înmulţesc şi se dezvoltă rapid, dacă dispun de hrană suficientă, ceea ce găsesc din belşug în must şi vin, dacă au la dispoziţie cantităţi îndestulătoare de oxigen şi dacă temperatura este convenabilă. Temperatura cea mai favorabilă pentru dezvoltarea acestor bacterii este de 34°C, limita superioară fiind de circa 42°C, iar cea inferioară chiar de 4—7°C. Alcoolul din vin, deşi nu este absolut necesar pentru înmulţirea bacteriilor oţetirii, măreşte mai mult energia cu care se înmulţesc, dar numai atunci cînd conţinutul în alcool al vinurilor este în jurul a 15 vol %.

Lipsa de aer (deci a golului în vasele cu vin), precum şi prezenţa dioxidului de carbon împiedică atît înmulţirea, cît şi dezvoltarea bacteriilor oţetirii. Vinurile cu un conţinut ridicat în aciditate fixă (acid tartric, malic, lactic) şi cu un potenţial alcoolic de peste 15 vol % sînt protejate de această boală.

Faţă de acidul sulfuros bacteriile oţetirii sînt foarte sensibile, de aceea folosirea acestuia în tehnologia de elaborare şi condiţionare a vinurilor devine indispensabilă.

Cînd bacteriile acetice găsesc condiţii favorabile reproducerii şi dezvoltării amintite, transformă mai multe grupuri de substanţe din vin: alcoolul etilic, glucidele, glicerolul şi chiar acizi organici (lactic şi acetic). Ponderea deosebită o deţine transformarea alcoolului etilic în acid acetic, printr-un proces de oxidare biologică. Reacţia globală care exprimă metabolizarea alcoolului etilic în acid acetic este următoarea:



$$CH_3—CH_2OH + H_2O + 2NAD \rightarrow CH_3COOH + 2NADH \cdot H^+.$$

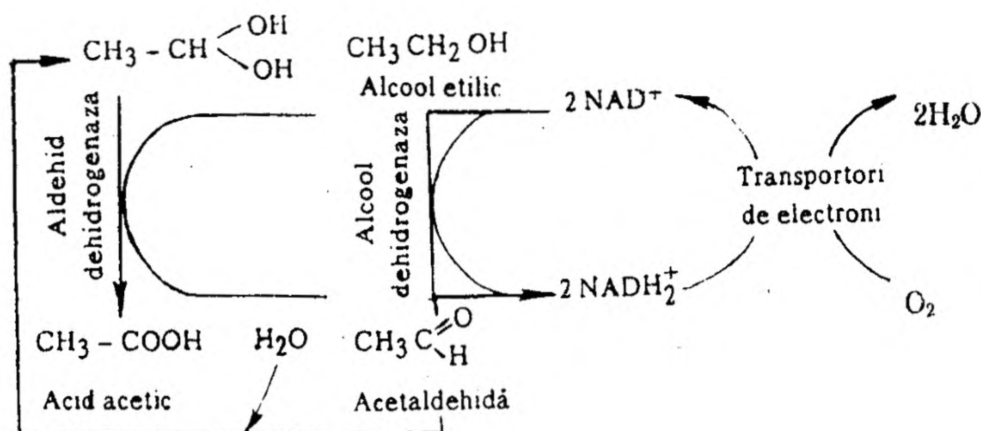
În schema 1 este redată, în ansamblul său, metabolizarea alcoolului etilic în acid acetic de către bacteriile acetice.

Pe parcursul acestui proces de transformare, printr-o reacţie de esterificare parţială a acidului acetic, rezultă şi acetat de etil (esterul etil acetic), care, dispunînd de proprietăţi odorante mai accentuate, semnalează pericolul oţetirii.



Dacă bacteriile oţetirii sînt scufundate în vin, boala nu poate avea loc, deoarece lipseşte oxigenul necesar transformării alcoolului în acid acetic. Dar în aceste condiţii atacă acizii ficşi ai vinului (tartric, malic, succinic, lactic), utilizîndu-i în procesul de respiraţie, precum şi ca hrană.

Deci această boală poate dezorganiza într-un timp relativ scurt



Schema 1. Metabolizarea alcoolului etilic în acid acetic de către bacteriile acetice

întreaga compoziție a vinului, făcîndu-l impropriu pentru consum.

P r e v e n i r e a o ț e t i r i i v i n u r i l o r se poate realiza, luînd măsuri ca bacteriile oțetirii să ajungă în număr cît mai mic în vinuri, iar cele care ajung să fie puse în condiții care împiedică înmulțirea lor. Culesul strugurilor trebuie să se facă în coșuri, lădițe numai după ce acestora li s-a asigurat o perfectă stare de curățenie și dezinfecție. Aceeași exigență trebuie să se manifeste și pentru mijloacele cu ajutorul cărora se transportă strugurii la centrele de prelucrare. Strugurii cu boabele atacate de mucegaiuri sau cei care au pielițe deteriorate, pe care se află un număr impresionant de bacterii ale oțetirii, trebuie să fie recoltați și vinificați separat. Vinificarea acestor struguri este necesar să se facă la scurt timp după recoltare, cu doze sporite de dioxid de sulf, realizînd în mod obligatoriu limpezirea musturilor și corectarea acestora în ceea ce privește conținutul în aciditate fixă și tanin.

Vasele, utilajele, mașinile, instalațiile și ustensilele întrebuințate în procesul de elaborare și condiționare a vinurilor trebuie să fie menținute permanent în perfectă stare de curățenie.

Durata presării mustuielii este necesar să fie cît mai scurtă, altfel prin încălzirea ei bacteriile oțetirii se dezvoltă rapid și devin active.

Dacă în timpul culesului temperatura aerului e ridicată, acest proces, cît și transportarea strugurilor, zdrobirea-desciorchinarea, separarea mustului ravac, presarea mustuielii, precum și ansamblarea și limpezirea mustului se vor efectua cît mai rapid, spre a nu da răgaz bacteriilor să se dezvolte.

Fermentația alcoolică a mustului trebuie să se realizeze la temperaturi cît mai scăzute (18—20°C pentru vinurile albe, 26—29°C pentru cele roșii) și numai utilizînd maia de levuri selecționate, care suportă doze mai mari de anhidridă sulfuroasă (levuri sulfitice).

Este necesar să se evite stropirea cu must și vin a pereților exteriori, a vaselor și a dușumelelor; de asemenea să se evite utilizarea altor feluri de dopuri în timpul fermentării în locul pîlniilor speciale de fermentare — toate acestea constituie medii prielnice pentru dezvoltarea bacteriilor.

După terminarea procesului fermentaţiei alcoolice recipientelor cu vin li se face plinul pînă aproape de vrană şi li se pun dopurile de siguranţă, astfel încît să fie înlăturată posibilitatea pătrunderii aerului, dar în acelaşi timp să se faciliteze evacuarea dioxidului de carbon.

Ori de cîte ori este necesar să se tragă vinul dintr-un vas în altul trebuie să i se asigure protecţia cu anhidridă sulfuroasă.

Vinul trebuie păstrat în depozite, a căror temperatură să nu depăşească 12°C, şi în vase totdeauna pline pînă la vrană. Dopul vranei nu trebuie să pătrundă prea adînc în vin şi să nu fie confecţionat din lemn poros (plop, salcie, tei), spre a evita urcarea vinului din vas prin el. Cea mai bună specie pentru confecţionarea dopurilor este stejarul. Periodic dopurile se şterg pe partea exterioară cu alcool (65—96 vol %) sau cu soluţie de anhidridă sulfuroasă (4—6%).

T r a t a r e a v i n u r i l o r o ţ e t i t e. Dacă prin analiza organoleptică sau de laborator se sesizează un început de oţetire, atunci vinul trebuie trecut în consum, dar numai după ce a fost pasteurizat şi filtrat în condiţii de sterilizare.

Pasteurizarea se face la temperatura de 60—70°C, timp de 5—15 minute.

Se mai recomandă şi refermentarea vinurilor bolnave pe tescovină proaspătă. După fermentaţie vinul se toarnă în butoaie sulfitate sau se pasteurizează.

Cînd boala este într-un stadiu avansat, nu mai are remediu. Vinul nu mai poate fi dat în consum, ci trebuie orientat către fabricile de oţet sau se va distila pentru a recupera alcoolul.

După ce s-au golit vasele în care au fost depozitate vinurile bolnave, trebuie efectuată o dezinfecţie cu aburi fierbinţi şi spălări cu soluţii de anhidridă sulfuroasă, în vederea distrugerii bacteriilor acetice.

Manitarea vinului. Dacă în vinuri apare izul de acid lactic, el se datorează în cea mai mare parte fermentaţiei manitice a zahărului şi într-o mai mică măsură transformării acidului malic în acid lactic. In acest caz boala se numeşte manitarea vinului. Vinurile afectate de această boală au gust acru-dulceag, sgîrietor, cînd este înghiţit, au miros şi aspect de zeamă de varză sau de borş.

Răspunzătoare de apariţia acestei boli se fac bacteriile: *Bacterium manitopoeum, Bacterium gracile, Bacterium intermedium, Bacterium gayoni* (fig. 45).

Bacterium manitopoeum transformă glucoza în acid lactic, acid acetic, acid lactic şi dioxid de carbon. Totodată este raspunzătoare şi de transformarea acidului malic în acid lactic. Activitatea lor evidentă se desfăşoară la temperaturi cuprinse între 24—34°C. Cantităţi mai mari de acizi: malic, tartric, de alcool şi tanin existente în vin constituie condiţii nefavorabile pentru aceste bacterii. Sînt destul de rezistente faţă de acidul sulfuros, fapt pentru care acesta singur nu le poate stingheri decît utilizînd doze foarte mari. Folosind acidul sulfuros în prezenţa unor conţinuturi mai mari de alcool, tanin, acizi, acesta poate împiedica activitatea bacteriilor chiar în

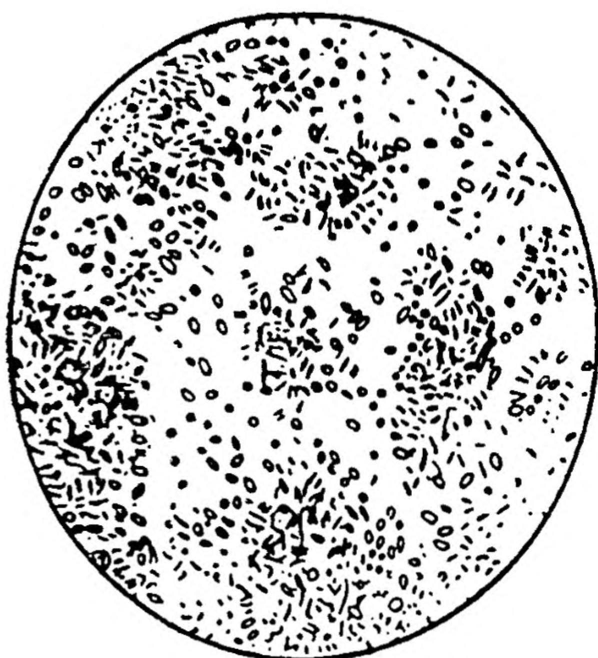


Fig. 45. Bacteriile responsabile de manitarea vinului

doze mai mici. Bacteriile acționează atît în prezența, cît și în absența aerului.

Bacterium gracile descompune complet și rapid acidul malic liber, transformîndu-l în acid lactic, dioxid de carbon și mici cantități de acizi volatili. Acidul citric este transformat în cantități mici de acid lactic și cantități mari de acizi volatili.

Bacterium intermedium descompune complet acidul malic liber, transformă fructoza în acid lactic, acid acetic, acid carbonic și manită. Glucoza și chiar zaharoza sînt transformate în acid lactic, acid carbonic și mici cantități de acid acetic și alcool etilic. Aceste bacterii mai produc în vinuri și o substanță care dă acestuia mirosul și gustul de urină de șoareci.

Bacterium gayoni se dezvoltă energic chiar la temperaturi de peste 38°C. Spre deosebire de celelalte bacterii prezentate, mai formează din fructoză și cantități mici de acid succinic și glicerină, iar din glucoză și zaharoză — cantități mari de acid acetic, apoi acid carbonic, alcool metilic, glicerină și acid succinic. Aceste bacterii reacționează foarte puternic, cînd fermentația alcoolică a mustului s-a oprit ca urmare a ridicării temperaturii lui peste 36°C.

Bacteriile din aceste patru grupuri se numesc și bacterii manitice, fiind capabile să formeze manită prin descompunerea fructozei:

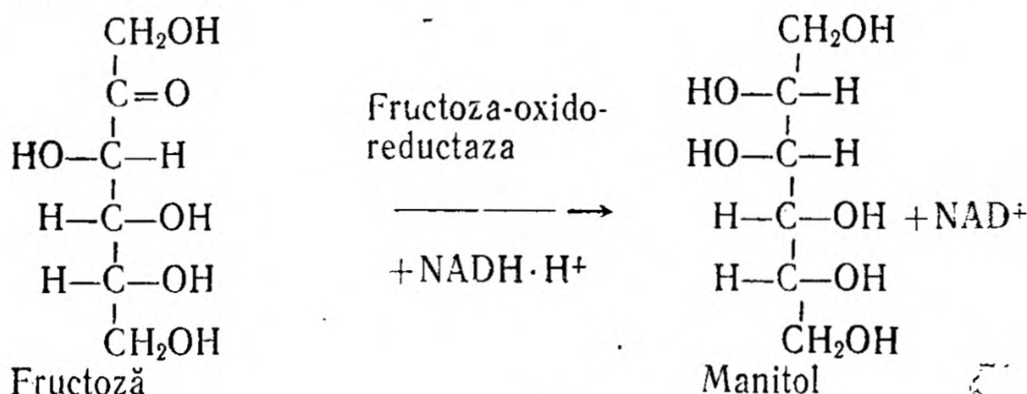
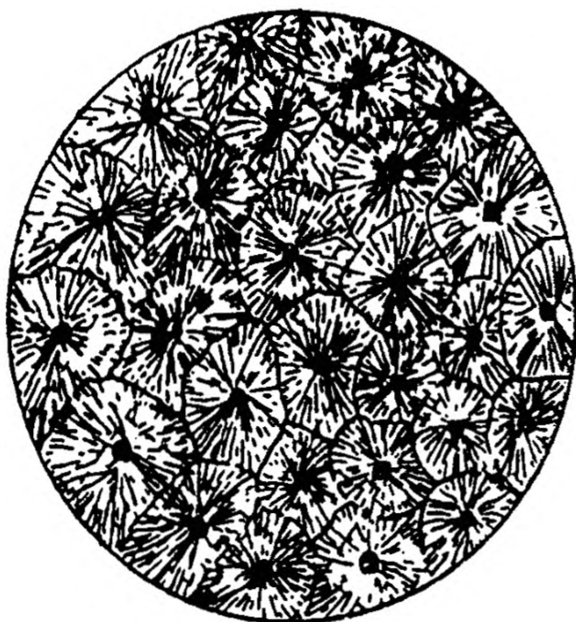


Fig 46. Cristale de manită



Manitarea vinurilor apare mai frecvent la cele sărace în alcool, tanin şi aciditate (mai ales acid tartric). Intensitatea ei este cu atît mai mare, cu cît asemenea vinuri sînt depozitate în localuri cu temperaturi ridicate, dezvoltarea optimă a acestor bacterii fiind la temperaturi cuprinse între 24—34°C.

Manitarea vinurilor poate avea loc chiar în timpul fermentaţiei alcoolice a mustului, mai ales cînd acesta are conţinutul în aciditate redus, fermentaţia s-a oprit din cauza ridicării temperaturii lichidului la peste 34°C, iar în el se află puţin alcool şi încă mult zahăr nefermentat.

Sînt situaţii cînd temperaturile excesive apar spre sfîrşitul fermentaţiei alcoolice a mustului; dacă nu sînt luate măsuri de reducere a acestor temperaturi şi de oxigenare a mustului-vin pentru a reactiva levurile, atunci fermentaţia manitică poate avea loc chiar la 30°C, deoarece levurile folositoare devin «leneşe», activînd foarte puţin, iar bacteriile manitice intră energic în acţiune, transformînd zahărul (spre sfîrşitul fermentaţiei alcoolice fiind aproape numai fructoză) în manită, acid lactic, acid acetic etc.

Dacă în vinurile sănătoase conţinutul de manitol este în jurul la 0,04 g/l, în vinurile afectate de această boală e de 30 g/l.

Vinurile ce au suferit fermentaţia manitică se recunosc uşor, punînd pe o sticlă de ceas să se evapore 1—2 ml vin şi apoi se spală sedimentul cu alcool etilic, rămînînd un strat subţire ce este alcătuit din cristale de manitol de forma unor ace dispuse în steluţe (fig. 46).

Tratarea vinurilor afectate de manită. Vinurile afectate de manită trebuie filtrate şi pritocite în vase curate, în prealabil sulfitate sau pasterizate. Dacă conţin zahăr nefermentat, e nevoie de a-l fermenta cu ajutorul culturilor de levuri selecţionate. Vinurile atacate puternic de boală după tratare pot fi folosite la cupajare.

Vinurile bolnave de fermentaţia manitică nu pot fi tratate pe

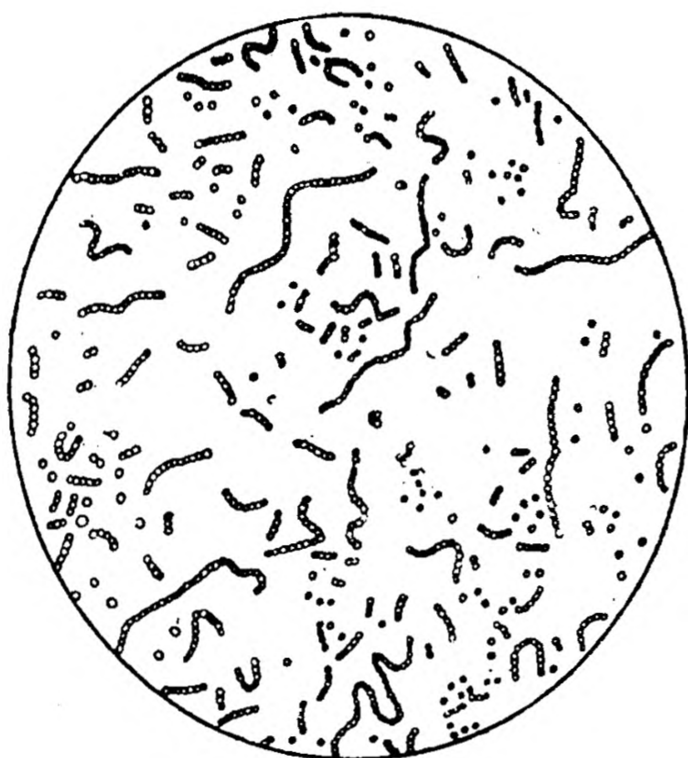


Fig. 47. Bacteriile responsabile de băloşirea vinului

deplin. De aceea vinificatorii trebuie să depună eforturi pentru a preveni această boală.

Băloşirea vinului. Această boală este mai frecventă în zonele viticole cu climat mai răcoros şi la vinurile tinere, slab alcoolice, cu conţinut prea mic de tanin, sărace în aciditate, bogate în substanţe azotate şi cu zahăr rezidual.

Vinul băloşit, cînd se toarnă în pahar, se întinde ca nişte bale (ca saliva animalelor, albuşul de ou sau zeama de varză stricată). Dacă se agită vinul în pahar, se constată degajarea de dioxid de carbon. La gust pare cleios, dar buchetul rămîne, de obicei, nealterat. Aspectul tulbure, sub forma unui nor uşor, dispare, dacă vinul este agitat, deoarece substanţa gelatinoasă se depune la fund şi vinul devine limpede.

Intr-o fază mai înaintată a bolii, vinul se tulbură şi devine vîscos, şi anume din cauza că în jurul microorganismelor se formează o masă zoogleică, de natură glucidică; uneori se ajunge chiar la gelificarea masei vinului.

Agenţii patogeni răspunzători de această boală sînt bacteriile ce aparţin în principiu genurilor *Leuconostoc* şi *Streptococcus* (fig. 47), la care se mai pot asocia bacteriile acetice şi chiar ciuperca *Dematium pullulans*.

Prevenirea băloşirii vinurilor se poate realiza, luînd următoarele măsuri:

corectarea acidităţii mustului, asigurînd 4,5—5,5 g/l (exprimată în H_2SO_4);

către sfîrşitul fermentaţiei mustului se realizează corecţia de tanin;

fermentaţia alcoolică a mustului trebuie să înceapă cît mai repede

(să nu lîncezească), astfel ca tot zahărul de care dispune mustul să fie transformat (să nu mai fie zahăr rezidual). Pentru aceasta musturile se însămînțează cu maia de levuri selecționate din specia *Saccharomyces oviformis*, asigurînd în local temperatura optimă;

după terminarea fermentației și depunerea drojdiei vinul limpede trebuie tras de pe acesta cît mai repede;

toate celelalte pritociri ale vinului să fie făcute la timp, cu respectarea regulilor ce se impun, inclusiv asigurarea protecției vinului cu dioxid de sulf;

vasele cu vin trebuie ținute în permanență pe plin, iar în local temperatura să nu depășească 12°C.

Tratamentul vinurilor afectate de băloșire. Cînd boala este la început și vinul mai conține zahăr rezidual, se provoacă o nouă fermentație, folosind specii de levuri rezistente la noile condiții impuse. Uneori este suficientă, pentru înlăturarea bolii, o aerare energică, protejînd vinul prin sulfitare. După această aerare energică vinul se supune operațiunilor de cleire cu gelatină sau unui tratament cu bentonită (deseori tratamentele dau rezultate bune). După limpezire vinul se trage de pe depozit, se filtrează, sterilizează și se poate consuma.

Dacă boala este într-un stadiu mai avansat, se recurge la reînsămînțarea cu levuri, în vederea epuizării conținutului în zahăr, după care vinul se protejează cu dioxid de sulf, se bate energic și i se aplică tratamentul de limpezire cu gelatină și bentonită, se pasteurizează la 75—80°C, se filtrează sterilizant și se pune în consum.

Degradarea glicerolului sau amăreala vinului. Boala apare mai des la vinurile roșii. La cele albe apare foarte rar și numai la cele care sînt fermentate parțial sau total pe boștină cu ciorchini.

Ea poate apărea și la vinurile vechi de cea mai bună calitate, care au fost depozitate timp îndelungat în butoaie noi. La vinurile îmbuteliate boala apare chiar după mai mulți ani.

Vinurile la început își pierd culoarea strălucitoare (roșie-aprins la cele roșii și galbenă-strălucitoare la cele albe), apoi apare gustul fad și dulceag. Cînd boala avansează, sporește aciditatea volatilă și cea fixă, cît și cantitatea de acetaldehidă și acroleină. Ca urmare vinurile au gust amar, din cauza căruia nu mai pot fi consumate. De multe ori asemenea vinuri rămîn limpezi și cu culoarea neschimbată, dar sînt și cazuri cînd ele se tulbură, culoarea devine brună și formează un precipitat brun.

Voisenet constată că bacteriile lactice, care provoacă această boală, atacă în prima fază glicerolul, transformîndu-l în acroleină, iar în faza a doua acroleina se combină cu polifenolii, rezultînd compuși instabili, ce sînt răspunzători de gustul amar.

Mecanismul biochimic de degradare a glicerolului de către bacteriile ce provoacă amăreala vinului este parțial elucidat.

Măsurile de prevenire a apariției amărelii în vinuri constau în următoarele:

prelucrarea strugurilor și mustului, condiționarea vinurilor trebuie realizate sub protecție de dioxid de sulf;

la recoltarea strugurilor avariaţi se vor respecta unele reguli suplimentare, referitoare la limpezirea mustului, corecţiile acestuia (de aciditate, tanin), conducerea fermentaţiei alcoolice, lucrărilor de condiţionare;

în timpul fermentaţiei alcoolice să nu intervină temperaturi excesive.

T r a t a r e a v i n u r i l o r a f e c t a t e d e a m ă r e a l ă. Cînd boala a fost depistată la începutul manifestării ei, deci gustul amar nu este prea pronunţat, se poate recurge la un tratament cu caseină sau gelatină, după care se poate realiza o pasteurizare timp de un minut la temperatura de 65—70°C. De asemenea se poate apela la o sulfitare mai energică, la o cleire cu gelatină şi bentonită, urmată de o acidifiere cu 0,4—0,5 g/l acid citric şi în final procedîndu-se la o filtrare sterilizantă.

Dacă boala este într-un stadiu avansat, vinurile nu mai pot fi puse în consum şi se vor distila în vederea recuperării alcoolului.

Înăcrirea lactică sau borşirea vinurilor. Aceasta este una din cele mai răspîndite boli, foarte periculoasă, şi duce la pierderi materiale mari, mai ales în regiunile sudice de viticultură şi vinificaţie.

De borşire pot fi afectate toate tipurile de vin: seci cu zahăr rezidual (cu fermentaţia neterminată), demidulci, de desert, alcoolizate tari, vermuturile, cît şi vinurile din mere.

Vinurile de şampanie sînt un mediu nefavorabil pentru dezvoltarea bacteriilor lactice, dar, în urma neglijenţei procesului tehnologic de şampanizare în rezervoare (folosirea vinurilor, infectate puternic cu bacterii şi aplicarea levurilor inactive), produsele activităţii vitale a bacteriilor înăbuşă procesul fermentaţiei repetate, ceea ce duce la înrăutăţirea calităţii şampaniei.

Fermentaţia lactică cea mai puterincă are loc în vinurile cu tărie ridicată din regiunile vinicole sudice, în special din Asia Mijlocie. Această boală a fost studiată detailat de către E. I. Kvasnikov şi G. F. Condo.

Rapiditatea dezvoltării bolii depinde de compoziţia vinului, de condiţiile de preparare şi de păstrare. Vinurile seci puţin acidulate cu fermentaţia neterminată se înăcresc foarte repede, vinurile acidulate, cu un conţinut mare de zahăr şi spirt, sînt destul de rezistente la această boală.

Vinurile afectate de fermentaţia lactică îşi pierd şi luciul, se tulbură. În ele apar nişte «valuri mătăsoase», uşor vizibile la lumină. În urma dezvoltării bolii vinul capătă gust dulciu-acriu neplăcut. Aroma caracteristică soiului de struguri dat dispare, fiind înlocuită de un miros neplăcut de murături. Adesea apare un iz de şoareci.

Provocatorii bolii sînt bacteriile lactice heterofermentative. Ele se acomodează uşor la concentraţii de spirt înalte, ceea ce le este caracteristic. Spre exemplu, toate tulpinile *Lactobacterium buchneri,* eliminate din vinurile afectate, se dezvoltă la concentraţiile spirtului de 16—23 vol %, iar unele — şi la 25 vol %.

Foarte rezistente la spirt sînt şi speciile *L. plantarum, L. brevi,*

L. fermenti. Cele eliminate din microflora Asiei Mijlocii de către E. I. Kvasnikov se dezvoltau la 16—20 vol %, iar unele şi la 22 vol % de spirt.

Rezistenţa bacteriilor faţă de spirt e în dependenţa de vîrsta culturii. Cultura tînără se înmulţeşte mai repede în medii cu mult spirt. Cu vîrsta dezvoltarea ei în astfel de medii încetineşte. Rezistenţa celulelor faţă de spirt slăbeşte în mediile sărace în componenţi nutritivi şi vitamine.

În vinurile ce nu conţin autolizate levuriale bacteriile se dezvoltă la o concentraţie mai joasă a spirtului faţă de cea indicată mai sus. Proprietăţile bactericide ale spirtului faţă de bacteriile lactice cresc la temperaturi înalte. Spre exemplu, în mediile cu 16 vol % de spirt majoritatea tulpinilor *L. buchneri* la 36°C nu se dezvoltă, iar la 38°C dezvoltarea tuturor tulpinilor încetează.

Asupra dezvoltării bacteriilor lactice acţionează şi aciditatea mediului, mai ales cea activă (pH).

După gradul de acţiune asupra bacteriilor acizii diferă mult. Cea mai mare influenţă o are acidul tartric. Mai puţin activ e acidul citric, care poate fi şi degradat de bacteriile lactice.

Interes practic prezintă stabilirea acidităţii active minimale, care frînează dezvoltarea bacteriilor în must şi vinuri. În vinurile alcoolizate austriece bacteriile lactice sînt în stare să se dezvolte la pH-ul 3,6, în vinurile slab alcoolice la pH-ul 3,4. În vinurile de masă californiene dezvoltarea bacteriilor e limitată de pH-ul 3,3—3,5, iar în cele de desert — aproape de 3,5. Conform rezultatelor lui E. I. Kvasnikov, creşterea bacteriilor în mustul cu autolizate levuriale pH-ul nu este mai mare de 3,4—3,5.

În vinuri bacteriile lactice se dezvoltă la o aciditate activă mai joasă. Majoritatea tulpinilor nu se dezvoltă în vinurile care au pH-ul mai jos de 3,5 şi numai unele dintre ele se pot dezvolta la pH-ul 3,3—3,4.

Temperaturile de dezvoltare a bacteriilor lactice în mediile fără spirt, dar îmbogăţite cu autolizate levuriale, sînt în limitele de 4—42°C. Cea mai intensivă dezvoltare a bacteriilor are loc la temperaturile de 20—35°C.

Concentraţiile înalte de zahăr frînează dezvoltarea bacteriilor. Spre exemplu, la o concentraţie de 10 vol % de spirt şi 25—30% de zahăr creşterea bacteriilor se observă la a 15-a zi, iar la 40% de zahăr — la a 25-a, la 45% bacteriile încep a se dezvolta peste o lună. Însă concentraţia de zahăr, ce o conţin vinurile, în ansamblu cu spirtul frînează foarte puţin dezvoltarea bacteriilor lactice.

Tanina din struguri, care trece în must în timpul maceraţiei, nu influenţează negativ asupra bacteriilor, pe cînd tanina din stejar are un efect funest asupra lor.

Acidul sulfuros este un mijloc efectiv de luptă împotriva bacteriilor lactice. Se ştie că în mustul cu pH-ul 4,2 majoritatea bacteriilor se dezvoltă la concentraţia anhidridei sulfuroase de 60 mg/l, iar unele celule — şi la 70—80 mg/l, la 80 mg/l toate bacteriile mustului de orice componenţă îşi încetează activitatea. În vinurile de desert

(pH-ul 4,2 şi 12 vol % de spirt) la doza de 60 mg/l a anhidridei sulfuroase se dezvoltă numai unele tulpini, iar la 80 mg/l încetează să se mai dezvolte toate tulpinile bacteriilor.

În vinuri bacteriile lactice nimeresc prin diferite surse de înfecţie: vinul bolnav, struguri de calitate proastă, tara pentru struguri şi vin infectată, inventarul şi aparatajul murdar, apa stătătoare nu prea curată.

La răspîndirea bolii ia parte şi musculiţa de oţet în timpul sezonului, cînd ea se înmulţeşte repede şi împrăştie bacteriile pe tot teritoriul întreprinderii.

Bacteriile lactice sînt anaerobi facultativi, se dezvoltă în tot grosul vinului şi n-au nevoie de accesul aerului.

În urma dezvoltării bacteriilor lactice în vinurile tari, de desert şi în cele seci nefermentate se observă scăderea concentraţiei zahărului, creşterea acidităţii titrabile (pînă la 9 g/l) şi volatile (pînă la 4 g/l) pe contul acizilor lactic şi acetic. Deseori se degajă dioxid de carbon, ceea ce creează impresia, că în vin are loc fermentaţia secundară. În urma fermentaţiei fructozei bacteriile formează manită. Deseori boala e însoţită de aparenţa izului de şoareci. Astfel, datorită activităţii bacteriilor lactice, responsabile de borşirea vinurilor, au loc procese chimice adînci, ireversibile, ce duc la alterarea vinului. De aceea principalul nu e lecuirea, ci prevenirea bolii.

Măsurile de prevenire a apariţiei borşirii în vinuri:

respectarea curăţeniei tarei şi recipienţilor (tara pentru struguri în sezon se curăţă şi se dezinfectează cu soluţie de 2% de acid sulfuros sau cu apă de var, apoi se spală bine cu apă);

vasele pentru vin se spală cu minuţiozitate şi se opăresc timp de 30 min. sau se moaie cu soluţie de acid sulfuros cu concentraţia de 800 mg/l;

sortarea strugurilor (înlăturarea bobiţelor afectate şi vătămate);

sedimentarea mustului sulfitat cu o doză de 100—150 mg/l şi sulfitarea ulterioară a vinului pînă la 80 mg/l şi tragerea devreme a vinurilor de masă de pe drojdii (îndată după terminarea fermentaţiei alcoolice) pentru prevenirea îmbogăţirii lor cu autolizate levuriale şi filtrarea ulterioară;

majorarea acidităţii mustului şi vinurilor cu aciditate joasă (e mai raţional a majora aciditatea mustului folosind acid tartric, nu citric. Aciditatea vinurilor e mai util a fi ridicată cu acid citric, deoarece introducerea acidului tartric duce la formarea hidrotartratului de caliu solubil);

menţinerea curăţeniei pe tot teritoriul întreprinderii (deşeurile din vinificaţie sînt înlăturate de pe teritoriu, podelele şi locurile de scurgere se dezinfectează cu acid sulfuros de 2% sau cu apă de var);

izolarea totală a vinurilor bolnave de cele sănătoase şi nimicirea muscuţei de oţet.

Tratarea vinurilor afectate de borşire e efectivă la începutul

manifestării bolii prin cleire și filtrare, inclusiv filtrarea de sterilizare.

Se recomandă și pasteurizarea la temperatura de 55°C timp de 2 min. pentru vinurile seci acidulate puternic, la 60—65°C — pentru vinurile de componență medie, la 70—72°C — pentru vinurile predispuse la îmbolnăvire și cu un conținut mare de bacterii lactice, la 45—50°C — pentru vinurile tari (17—20 vol % de spirt) și la 50—55°C — pentru vinurile de desert (13—16 vol % de spirt).

Sulfitarea vinurilor (pînă la 150 mg/l) se recomandă la începutul manifestării bolii, în lipsa de pasteurizare și de filtre sterilizatoare, cu filtrarea și ridicarea acidității lor ulterioare (în caz de necesitate).

Fermentarea propionică, sau degradarea acidului tartric. Are loc mai des la vinurile roșii și mai rar la cele albe. La început vinurile limpezi se tulbură. Se observă o degajare slabă de CO_2. Pe măsură ce boală progresează, tulburarea se intensifică, iar degajarea de CO_2 se accentuiază, creînd impresia că vinurile refermentează.

Bacteriile lactice *(Bacterium tartarophthorum)*, ce provoacă această boală, degradează acidul tartric sau sărurile lui cu formare de acid acetic, lactic, propionic. Sînt cazuri cînd acidul tartric este descompus pînă la CO_2 și H_2O.

Vinul afectat de această boală, gustat imediat după ce a fost scos din vas, este pișcător la gust, dar după degajarea CO_2 se constată că este fad, slab extractiv, oțetit sau acru, iar pe măsură ce boala progresează are gust și miros grețos. Culoarea vinurilor albe expuse la aer devine cenușiu-albăstrie, a celor roșii — brun-ciocolatie, apoi brun-negrie. In cele din urmă, la fundul vasului apare un sediment. La stadiul de boală mai înaintat în vin se observă niște fire mătăsoase mișcîndu-se în toate direcțiile.

In cazul cînd vinurile au numai gust acru, neplăcut, care devine și amar prin expunerea îndelungată la aer, e vorba de boala numită «maladie de la Tourne» (boala întoarcerii vinului, boala deteriorării vinului). Ea e provocată de bacteria *Bacillus amaracryllus, ce descompune* numai glicerolul în acid acetic, acid propionic și acid lactic.

Boala nu apare înainte de reducerea biologică a acidității vinului (pînă la transformarea acidului malic în acid lactic). Ea afectează în primul rînd vinurile cu pH-ul mai mare de 3,4, sărace în tanin, ținute în depozite, a căror temperatură depășește 15°C.

Această boală e întîlnită în regiunile viticole călduroase. Uneori ea decurge paralel cu fermentația manitică, cînd vinul mai are zahăr nefermentat, deoarece și *Bacterium tartarophthorum* are proprietatea de a produce din fructoză manită, acid lactic. In acest fel vinurile pot fi lipsite complet de acid tartric și glicerol.

Atît prevenirea, cît și combaterea bolii se realizează prin mijloacele prezentate la capitolul «Oțetirea vinului».

CAPITOLUL 6

MICROORGANISMELE ÎN PRODUCEREA UNOR VINURI SPECIALE

§ 1. Microbiologia vinurilor de şampanie

Cerinţele faţă de levurile folosite în producerea şampaniei. Levurile pentru producerea şampaniei trebuie să corespundă anumitor cerinţe, şi anume, de a-şi păstra activitatea la aciditate activă înaltă (pH-ul 1,8—3,2), la o tărie mare (10—12 vol %), la doze mărite de SO_2 (100 mg/l), la presiuni înalte (pînă la 0,5 MPa), la temperaturi comparativ joase (10—13°C), în lipsa totală de oxigen şi în prezenţa unei cantităţi neînsemnate de substanţe de creştere (ele sînt extrase din mediu de către levurile fermentaţiei primare). În astfel de condiţii levurile trebuie să provoace imediat fermentaţia, să fermenteze adăugător 20—30 g de zahăr într-un litru şi să acapareze produsele preţioase ale fermentaţiei, care determină gustul şi aroma împrospătătoare ale şampaniei, cantitatea minimală de acizi volatili.

Levurile folosite în şampanizarea la sticle trebuie să corespundă tuturor cerinţelor sus-numite, să formeze un sediment granulos sau în formă de cocoloş, uscat şi greu, uşor să treacă pe dop.

La şampanizarea în rezervoare levurile trebuie să formeze un sediment granulos măşcat, ce înlesneşte limpezirea şi filtrarea vinului.

Levurile din producerea şampaniei după terminarea fermentaţiei trebuie să moară imediat pentru a forma produsele autolizei, care acţionează pozitiv asupra calităţii şampaniei. Ele trebuie să posede esteri şi să contribuie la acumularea unei cantităţi suficiente de acid carbonic fixat, care apreciază perlarea şampaniei.

Pentru fiecare metodă de şampanizare e necesar a avea rase selecţionate de levuri, ce posedă o activitate fiziologică înaltă.

Timp îndelungat se socotea că procesul de şampanizare e provocat de levurile *Saccharomyces vini.* Cercetările sedimentelor de levuri din acratofoarele diferitelor întreprinderi de şampanie au demonstrat că predomină specia *Saccharomyces oviformis.* Aceasta se explică prin rezistenţa lor mai mare faţă de spirt şi SO_2, cît şi prin capacitatea lor de a se dezvolta în prezenţa limitată a aerului. Prin urmare, în condiţiile de producere are loc dislocarea spontană a speciei *Saccharomyces vini,* adaptată mai puţin la condiţiile de şampanizare, de către levurile *Saccharomyces oviformis,* mult mai adaptate la aceste condiţii.

La producerea şampaniei se folosesc următoarele rase de levuri selecţionate: de Leningrad, de Harcov, de Muscat, 21, 21 R, Kahuri-7, care se păstrează în condiţii ce asigură curăţenia şi viabilitatea lor.

Rasele trec un control special în laboratorul de cercetări ştiinţifice în domeniul tehnologiei vinurilor spumante (Institutul unional fără frecvenţă al industriei alimentare).

Particularitățile pregătirii maielei în producerea șampaniei. La baza pregătirii maielei stă principiul de sporire permanentă a masei biologice și ridicarea activității fiziologice a levurilor.

Metoda de pregătire a maielei depinde de metoda de șampanizare. Spre exemplu, pentru producerea șampaniei nobile la sticle maiaua se pregătește din vinurile de bază cupajate și licoarea de tiraj la o temperatură de pînă la 15°C. Mediul nutritiv trebuie să conțină 10—11 vol % de spirt, 5—8% de zahăr la o aciditate titrabilă de 7—8 g/l. Pasteurizarea mediului nutritiv se efectuează la temperatura de 85—90°C timp de 15 min.

Înmulțirea levurilor are loc pe etape. Mai întîi cultura selecționată se introduce în eprubetă cu 10 ml de mediu nutritiv. Cînd începe fermentația abundentă conținutul eprubetei e transferat în balon de 250 ml cu 100 ml de mediu nutritiv, apoi, consecutiv, în baloane de 1000 ml cu 500 ml de mediu nutritiv, în balon de 3000 ml cu 1700 ml de mediu nutritiv și apoi în instalația pentru levuri. Din această instalație 25—30% din maia (generația a cincea) se introduce în instalația de producere a levurilor pentru prepararea maielei de producere.

În producerea șampaniei la sticle maiaua se introduce direct în sticlă (cîte 1 mln celule levuriale la un mililitru).

La pregătirea maielei pentru șampanizarea în rezervoare e folosit în calitate de mediu nutritiv amestecul din acratofor după pasteurizare la temperatura de 65—70°C sau după filtrarea de sterilizare. Etapele pregătirii sînt aceleași ca și la șampania nobilă.

Maiaua se pregătește prin metoda continuă într-un sistem de aparate de levuri, unite consecutiv și înzestrate cu un sistem de amestecare, aerare și reglare a temperaturii.

Ca mediu nutritiv servește amestecul de tiraj cu un conținut de 2—4% de zahăr.

Umplerea aparatelor de levuri cu mediu nutritiv se înfăptuiește consecutiv de la ultimul spre primul cu intervalul de 10—12 ore.

În primul aparat fermentația se petrece la temperatura de pînă la 15°C, iar în următoarele temperatura treptat e micșorată astfel, încît în ultimul să corespundă temperaturii din ultimul aparat al liniei de șampanizare.

În procesul cultivării în mediu permanent se dă aer steril. Cantitatea aerului treptat se micșorează de la primul aparat spre ultimul, unde aer nu se dă deloc. Consumul aerului steril în primul aparat se menține în limitele de 0,6—0,8 l/oră la 1 l de mediu.

Lichidul în aparate e amestecat permanent pentru a asigura distribuirea uniformă a celulelor și desorbția dioxidului de carbon.

În producere se folosește maiaua din ultimul aparat de levuri. Ea se dă în cantitate de 3—5 mln de celule levuriale pentru fiecare mililitru.

În legătură cu introducerea pe larg în industrie a metodei accelerate de deaerare biologică a cupajului, a tratamentului cu căldură a amestecului de fermentație și a șampanizării vinului cu un conținut de zahăr de 2,0—2,2 g în 100 ml condițiile de dezvoltare a levurilor

s-au complicat. Astfel, pentru petrecerea normală a procesului tehnologic e nevoie de a mări concentrația celulelor în maia și de a ridica activitatea lor fiziologică.

Procesul de pregătire a levurilor către șampanizare se efectuează în sistem dintr-un singur recipient prin metoda omogenă continuă. In aparatul de levuri sînt dozați componenții mediului nutritiv și aerul steril. Ca mediu nutritiv servește vinul de bază cupajat cu adăugire de licoare, însă cantitatea zahărului nu trebuie să depășească 0,4—0,6 g în 100 ml. Inmulțirea levurilor are loc la temperatura de 20°C. Agitarea se înfăptuiește cu ajutorul amestecătorului cu turbină cu viteza de rotație de 1100—1500 rotații pe minut. Maiaua ce iese din aparat conține 300—500 mln de celulue într-un mililitru. Ea nimerește într-un dispozitiv de acțiune continuă, unde are loc concentrarea levurilor și separarea lor de lichidul cultural. In calitate de dispozitiv de concentrare poate servi separatorul de tip închis, hidrociclonul electroseparatorul etc.

Lichidul cultural, împreună cu levurile rămase în el, se îndreaptă la regenerare într-o instalație de aerare biologică accelerată. Maiaua concentrată nimerește în activator, unde la temperatura de 8—10°C și la o presiune ridicată, egală cu presiunea din aparatele de fermentație, are loc restructurarea sistemelor de enzime din levuri de la respirație la fermentație și, prin urmare, pregătirea lor către condițiile de șampanizare.

Cauzele tulburărilor biologice a vinurilor șampanizate. Sînt cazuri cînd șampania gata se tulbură. Tulburarea șampaniei poate fi provocată de levurile de vin și cele sălbatice, cît și de bacteriile lactice — excitanții fermentării malolactice.

Dezvoltarea levurilor în șampania la sticle reîncepe în cazul tăriei joase a vinului de bază sau a menținerii șampaniei pe drojdii timp scurt. In primul caz tăria șampaniei e la fel joasă, iar la tăria mai mică de 11 vol % levurile își reîncep activitatea. In cazul al doilea în șampanie rămîne o cantitate mare de celule vii, capabile să se dezvolte.

Cauza tulburărilor șampaniei de acratofor este înlăturarea parțială a levurilor în urma filtrării.

Tulburarea șampaniei, în special a celei la sticlă, poate fi provocată și de levurile sălbatice *Brettanomyces*. Pentru a preveni dezvoltarea lor e necesar a efectua filtrarea de sterilizare a vinurilor de bază pentru șampanie.

Dezvoltarea bacteriilor lactice dezacidificatoare în șampania gata are loc atunci, cînd pentru șampanizare au fost folosite vinuri tinere, în care scindarea acizilor n-a avut loc sau n-a fost dusă pînă la capăt.

§ 2. Microbiologia vinurilor heres

Levurile de heres. Sînt rase, la fel ca şi levurile de heres spaniole cunoscute sub denumirea «flor», capabile să formeze la suprafaţa vinului, din butoaiele neumplute, o peliculă, datorită dezvoltării căreia vinul capătă un gust şi o aromă deosebită.

La început enologii considerau că pelicula de heres e formată de levurile sălbatice *Mycoderma vini (Candida Mycoderma)*, care în condiţiile noastre provoacă boala vinurilor seci, numită «floarea vinului». Faptul că în Spania aceste levuri nu duceau la alterarea vinului, ci la înnobilarea lui îl explicau prin tăria înaltă a vinurilor spaniole (nu mai puţin de 14 vol %), căpătate din materie primă cu un procent de zaharitate înalt.

Studierea proprietăţilor morfologice şi fiziologice a levurilor de heres spaniole de către savanţii ruşi A. M. Frolov — Bagreev, M. A. Hovrenko şi B. I. Babenko a arătat că levurile de heres sînt de genul *Saccharomyces,* adică sînt levuri de vin adevărate.

Levurile de heres sînt anaerobi facultativi cu o proprietate înaltă de fermentaţie. După terminarea fermentaţiei ele în condiţii aerobe formează uşor o peliculă la suprafaţa vinului, provocînd schimbări biochimice esenţiale în el.

Cele mai cunoscute culturi ale levurilor heres sînt varietăţi ale *Saccharomyces aviformis var. cheresiensis.*

Cercetarea minuţioasă a levurilor de heres, selecţionarea lor, introducerea celor mai eficace rase în producere, cît şi argumentarea ştiinţifică a producerii heresului sovietic au fost efectuate de M. A. Gherasimov şi N. F. Saenko.

N. F. Saenko a stabilit că pelicula levurilor spaniole de heres reprezintă un complex spontan de organisme levuriale cu diferite proprietăţi morfologice-fiziologice, cît şi cu capacităţi diverse de fermentare şi peliculare. Unele rase din acest complex nu formează peliculare sau formează numai un inel. Din acest complex ea a căpătat o cultură selecţionată cu proprietate de fermentare şi peliculare mai bună şi cu calităţi de heres mai înalte decît ale complexului.

Ulterior levuri de heres, asemănătoare celor spaniole, au fost descoperite în multe regiuni vinicole ale ţării noastre: Armenia, Uzbechistan, Daghestan. Deci s-a dovedit că levurile spaniole de heres sînt endemice, adică răspîndite numai într-o anumită regiune.

Morfologic levurile de heres nu se deosebesc de cele de vin. Ele au forma eliptică, ovală, rotunjită. Celulele din sediment sînt mai măşcate decît din peliculă.

În procesul fermentaţiei alcoolice, comunica G. Şanderli, levurile de heres înmuguresc în special la capetele polare, iar în timpul formării peliculei înmugurirea are loc pe toată suprafaţa celulei. astfel se formează celule mai mici, rotunjite.

Levurile de heres au capacitatea de a forma spori. Unele rase formează repede o mulţime de spori, iar altele — cîţiva spori foarte lent.

Nici una dintre rasele căpătate de N. E. Saenko din pelicula de

heres spaniolă nu forma spori pe diferite medii. folosite pentru identificarea lor. Chiar şi acele tulpini a levurilor de heres, care iniţial formau spori, după o cultivare îndelungată în condiţii de laborator îşi pierdeau această capacitate. Deci dacă levurile timp îndelungat se află în condiţii prielnice, ele îşi pierd capacitatea de a forma spori.

Levurile de heres fermentează mustul, formînd un sediment, şi după 10—15 zile de fermentaţie (uneori şi mai devreme, în dependenţă de concentraţia spirtului) începe formarea peliculei. La început pelicula apare în formă de pete, care, mărindu-se, se unesc şi formează o peliculă compactă, brînzoasă. La început ea e albă şi netedă, apoi devine zbîrcită cu nuanţă roz-gălbuie, mai tîrziu — gri, gri-închisă şi chiar neagră.

Peliculele uscate, ceroase sînt mai rezistente decît cele umede şi zbîrcite, care deseori sedimentează. Dacă vinul periodic nu se înnoieşte, creşterea peliculei încetează din cauza schimbărilor esenţiale în componenţa vinului.

Levurile de heres în perioada fermentaţiei şi oxidării întrebuinţează glucoză, fructoza, manoza, zaharoza, maltoza şi 1/3 din rafinoză. Ele nu fermentează galactoza.

Produsele fermentaţiei levurilor de heres şi ale celor de vin sînt identice. Vinurile fermentate de levurile de heres au caracterul vinurilor tinere fără nuanţă specifică de heres. De aceea vinurile pentru heresare pot fi fermentate cu ajutorul levurilor de heres cu capacitate de fermentare înaltă.

Trăsătura caracteristică a levurilor de heres, ca şi a levurilor speciei *Saccharomyces oviformis,* este rezistenţa faţă de spirt. Unele rase ale levurilor de heres, eliminate de A. M. Frolov — Bogreev, produceau în procesul fermentaţiei 18—19 vol % de spirt.

Levurile de heres, eliminate de N. F. Saenko din levurile spaniole de heres, posedau o capacitate de rezistenţă înaltă faţă de spirt, dar pe vinurile cu o tărie mai mare de 15 vol % nu formau peliculă sau o formau foarte lent.

În practica de heresare e importantă pelicularea în prezenţa unei cantităţi mai înalte de spirt (16—17 vol %) pentru a preveni dezvoltarea bacteriilor acetice.

N. F. Saenko, mărind treptat concentraţia de spirt, a selecţionat din levurile Heres 20 rasele alcoolorezistente Heres 20-C şi Heres 96-K, care formează peliculă peste 3 zile în vinul cu 15—17 vol % de spirt. În prezent aceste rase se folosesc la heresarea vinurilor cu un conţinut de 16,0—16,5 vol % de spirt.

Factorii importanţi ai procesului de creştere a levurilor de heres

Cele mai importante caractere de producere, conform cărora se efectuează selecţia levurilor de heres, sînt alcoolorezistenţa şi intensitatea formării aldehidelor ce depind de rasă. După aceste criterii cele mai bune rase sînt Heres 96-K şi Heres 20-C, care formează repede pelicula pe vinul cu 16,5 vol % de spirt. Însă în unele regiuni vinicole din ţară (Armenia, Uzbechistan, Daghestan) au fost elimi-

nate rase locale de levuri de heres cu alcoolorezistență și activitate biochimică înalte, întrebuințarea cărora are perspectivă mare.

Paralel cu creșterea vîrstei levurilor de heres (peliculei) în peliculă scade simțitor activitatea fermentului alcooldehidrogenaza, ce catalizează oxidarea alcoolului etilic în aldehidă acetică. Activitatea acestei enzime e înaltă în pelicula tînără cu un număr mare de celule înmugurite. Totodată, în vinul de sub pelicula maturizată activitatea acestei enzime e de 7 ori mai mare decît de sub pelicula tînără. Aceasta se explică prin faptul că are loc desorbția enzimei în mediu de către celulele atrofiate.

Asupra vitezei formării peliculei influențează numărul de celule introduse în vin și metoda de însămînțare. Pentru dezvoltarea normală a peliculei e suficient a introduce în vas la fiecare 100 dal 4—5 balonașe de cultură a cîte 100—150 ml de vin. Pelicula trebuie pregătită pe același vin cu 2—3 săptămîni înainte de peliculare. În cazul cînd există pelicule tinere bine dezvoltate pe vin în butoaie, ele pot fi folosite la însămînțarea noilor partide după efectuarea controlului preventiv al purității.

În timpul însămînțării e necesar ca pelicula să nu sedimenteze la fund, ci să rămînă la suprafață. În acest scop se folosesc plase metalice, ce pot fi ușor sterilizate, sau însămînțarea vinului se efectuează cu pulverizatorul.

Asupra creșterii peliculei influențează și prezența levurilor sălbatice și a bacteriilor lactice. Unele levuri peliculare (spre exemplu *Hansenula),* dezvoltîndu-se împreună cu levurile de heres, influențează pozitiv asupra aromei și gustului heresului grație eterizării energice a lor. Levurile *Hansenula anomala* sînt capabile de a sintetiza de sine stătător vitaminele complexului B, care activează sistemul de enzime, ce efectuează sinteza eterilor.

Unii enologi spanioli au constatat activitatea favorabilă a levurilor *Hanseniaspora apiculata.* Experiențele efectuate de N. F. Saenko au arătat că aceste levuri frînează fermentația mustului și formarea peliculei.

Prezența bacteriilor lactice dezacidificatoare acționează negativ asupra procesului de heresare, deoarece duc la micșorarea cantității de aldehidă acetică. Rezultă că bacteriile dezacidificatoare după descompunerea acidului malic își continuă activitatea pe contul acidului citric, glicerinei și al altor substanțe, inclusiv și al aldehidei acetice.

Pentru a preveni dezvoltarea acestor bacterii, în vinurile pentru heresare se adaugă ghips: mărimea pH-ului devine mai mică de 3,5 și în aceste condiții bacteriile lactice nu se dezvoltă. Vinurile înainte de peliculare pot fi pasteurizate.

Pentru a reține creșterea bacteriilor lactice se recomandă a sulfita vinurile pentru heresare, folosind cîte 75—80 mg/l, iar pentru a le nimici — 100 mg/l.

Deosebit de importantă în procesul de heresare este concentrația alcoolului etilic. Pentru levurile spaniole concentrația optimă e de 13,5—14,5 vol %. N. F. Saenko a constatat că pentru protejarea vi-

nurilor de dezvoltarea bacteriilor acetice e rațional a heresa vinurile ce conțin 16,0—16,5 vol % de spirt.

Conținutul de zahăr rezidual mai mare de 0,2% în vinul pentru heresare frînează dezvoltarea peliculei. N. F. Saenko a stabilit că levurile spaniole de heres formează peliculă la aciditatea activă (pH-ul 2,9—4,2, optimal 3,3—3,8).

La pH-ul mai mare de 3,5 se creează condiții favorabile pentru dezvoltarea bacteriilor lactice, deci pentru heresare vinurile trebuie să aibă pH-ul mai mic de 3,5. La pH-ul 3,0 și mai mic creșterea peliculei de heresare se reține, de aceea se recomandă ca pelicularea să se petreacă la pH-ul 3,2—3,4.

Pentru reglarea pH-ului se recurge la metoda de prelucrare cu ghips. Ea se face pînă la fermentație, adăugînd $CaSO_4$ în boștină. M. A. Gherasimov și N. F. Saenko au constatat că prelucrarea cu ghips dă vinurilor de heres salinitate mică și amăreală plăcută datorită formării K_2SO_4.

Levurile de heres sînt destul de rezistente la anhidrida sulfuroasă, provocînd fermentația chiar și la un conținut de 200—300 mg/l de SO_2. În schimb creșterea peliculei se reține la 150 mg/l de SO_2.

Experiența de preparare a heresului în fosta U.R.S.S. arată că sulfitarea mustului în timpul sedimentării cu o doză de 100 mg/l nu reține dezvoltarea peliculei de heresare, ci e necesară pentru asigurarea calității înalte a vinului.

Doza necesară de a fi introdusă în vin înainte de peliculare depinde de doza primară a SO_2 și de cantitatea aldehidei acetice din vin: pentru dezvoltarea normală a peliculei de heresare cantitatea SO_2 liberă în vin nu trebuie să depășească 5—7 mg/l, iar totală — 100—120 mg/l.

Spre deosebire de levurile de vin, care sînt destul de rezistente la substanțele tanante (cantitatea de 5 g/l a taninei nu influențează asupra fermentației), levurile de heres sînt sensibile față de ele: la cantitatea de 300—500 mg/l de tanină se reține începutul creșterii peliculei de heresare. La o atare concentrație a taninei se recomandă cleirea vinurilor cu gelatină.

Experiențele efectuate de N. F. Saenko, I. M. Șur și R. M. Kiselevskaia arată că creșterea rapidă a peliculei de heresare și acumularea maximă a aldehidelor au loc în cazul cînd conținutul de fier constituie 15 mg/l. Atunci cînd ea e mai mare, vinurile trebuie demetalizate înainte de heresare.

În heresul gata conținutul de fier nu trebuie să depășească 2—3 mg/l.

Dezvoltarea peliculei de heresare și procesul de heresare depind în mare parte de temperatură. Conform datelor lui N. F. Saenko, cea mai rapidă peliculare are loc la temperatura de 16—18°C. În timpul heresării temperatura trebuie să fie ceva mai mică — pînă la 16°C. În așa condiții în vin se dezvoltă foarte bine nuanțele de heres.

PARTEA III. BIOCHIMIA VINULUI

CAPITOLUL 1

TRANSFORMĂRILE BIOCHIMICE ÎN TIMPUL COACERII STRUGURILOR

§ 1. Coacerea strugurilor (noţiuni generale)

Procesul de dezvoltare a bobiţelor de poamă pînă la momentul culesului include 3 perioade: de creştere, de coacere şi răscoacere.

Perioada de c r e ş t e r e începe din momentul legării bobiţelor. În acest timp bobiţele îşi măresc volumul şi masa, dar rămîn tari şi verzi. În ele au loc procese energice de oxidare. În timpul creşterii bobiţele conţin puţin zahăr (2—3%) şi o cantitate de acizi (2—3%) de cîteva ori mai mare decît în poama coaptă. Această perioadă durează 40—45 de zile.

C o a c e r e a începe cu înmuierea bobiţelor şi durează pînă la coacerea lor definitivă. Există trei grade de coacere a poamei: fiziologică, deplină şi tehnologică. Cînd seminţele sînt capabile de a încolţi, acest grad de coacere a poamei se numeşte fiziologic. Gradul de coacere deplină are loc atunci, cînd substanţele nutritive din frunze încetează să mai treacă în bobiţă, iar gradul de coacere tehnologică — cînd compoziţia (indicii) bobiţelor corespunde cerinţelor necesare pentru pregătirea unui anumit tip de vin.

Aceste trei grade de coacere pot coincide sau nu. Coincid pentru poama destinată pregătirii vinurilor dulci şi tari şi nu coincid pentru poama destinată pregătirii vinurilor de bază pentru şampanie, coniac, care se culege în stadiul de coacere tehnologică, ce are loc pînă la coacerea deplină şi fiziologică.

În perioada coacerii au loc schimbări calitative în componenţa chimică a bobiţelor. Activitatea proceselor de oxidare scade, are loc creşterea rapidă a zaharităţii sucului (pe contul afluxului zahărului din frunze), bobiţa devine moale şi semistrăvezie în urma trecerii protopectinei în pectină solubilă.

Clorofila din pieliţa bobiţelor dispare aproape definitiv. În pieliţa soiurilor de poamă neagră are loc formarea substanţelor colorante. Poama atinge gradul de coacere fiziologică atunci, cînd poate fi folosită pentru pregătirea anumitor tipuri de vinuri (coniac, şampanie). Această perioadă durează de la 15 zile pînă la 2 luni. Începutul culesului este apreciat de direcţia întrebuinţării strugurilor. De exemplu, cei pentru pregătirea vinurilor de bază pentru coniac se culeg cu zaharitatea de 15%, de şampanie — 17—19%.

Controlul coacerii strugurilor se înfăptuieşte după indicii de bază (conţinutul zahărului şi acidităţii titrabile) pe fiecare parcelă de către reprezentanţii sovhozului şi fabricii de vinificaţie primară.

El e necesar pentru aprecierea corectă a termenului recoltării roadei.

Perioada de răscoacere se caracterizează prin asimilarea ulterioară a zahărului în suc, ceea ce e necesar, de exemplu, pentru producerea vinurilor de lichior.

În acest timp ciorchinii se usucă puţin şi nu mai pot deplasa sucul din frunze în bobiţe, şi asimilarea absolută a zahărului încetează, dar concentraţia zahărului în suc continuă să crească datorită evaporării apei prin pieliţa bobiţelor. De aceea pentru răscoacere se folosesc de obicei şoiuri de poamă cu pieliţa subţire.

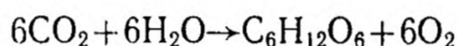
În timpul răscoacerii îndelungate bobiţele parţial se ofilesc şi se stafidesc. Concentraţia zahărului în suc poate să ajungă pînă la 35% şi mai mult.

Răscoacerea poamei pe tufe e însoţită de pierderi mari a roadei.

§ 2. Hidraţii de carbon (glucidele) ai poamei, formarea şi transformările lor

Hidraţii de carbon sînt partea componentă principală a tuturor plantelor. Ei se formează în plantele verzi ca rezultat al procesului de fotosinteză dintre dioxidul de carbon şi apă sub influenţa energiei luminoase. Astfel carbonul din formă neorganică trece în formă organică.

După ideile contemporane fotosinteza reprezintă un lanţ de reacţii de oxido-reducere. Ecuaţia sumară a fotosintezei este:



$$6CO_2+6H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6+6O_2$$

Mecanismul acestui proces este următorul: în timpul fotosintezei apa se descompune şi hidrogenul format ia parte la reducerea dioxudului de carbon.

În procesul de fotosinteză energia cinetică luminoasă a soarelui se transformă în energie chimică potenţială, care este acumulată de către substanţele organice compuse.

Fotosinteza are o mare însemnătate biologică: datorită ei anual sînt fixate aproximativ $(15-20) \times 10^{10}$ t de carbon şi se elimină în atmosferă $4+11^{11}$ t de oxigen.

Fotosinteza are loc în cloroplastele componenţilor celulari, partea componentă principală a cărora e clorofila.

Principalele produse ale fotosintezei sînt hidraţii de carbon (hexozele). Ei se formează în frunzele tufei de viţă-de-vie, de unde sînt transportate în bobiţe.

Hidraţii de bază ai bobiţelor de poamă sînt monozaharidele (monozele) cu componenţa $C_6H_{12}O_6$ — glucoza şi fructoza. Acestea sînt substanţe cristalizate cu masa moleculară 180, bine solubile în apă şi alcool. Glucoza roteşte suprafaţa de polarizare spre dreapta, iar fructoza — spre stînga. Ambele sînt fermentate de către levuri.

Fructoza e aproape de două ori mai dulce decît glucoza, de aceea raportul cantitativ dintre aceste zaharuri în must și vin are o importanță practică în producerea vinurilor dulci. E dovedit că raportul fructoza: glucoza depinde de gradul de coacere al poamei. La începutul coacerii el poate fi 0,5—0,8, în momentul coacerii — aproximativ 1, iar în poama răscoaptă — 1,2—1,3. Acest rapot depinde și de soiul viței-de-vie.

P e n t o z e l e sînt zăharuri cu componența $C_5H_{10}O_5$. In sucul de poamă sînt în cantități mici (pînă la 1 g/dm^3). Pentozele nu sînt fermentate de levuri și trec din suc în vin fără schimbări. Ele reduc soluția Feling (de aceasta trebuie ținut cont în timpul analizei vinurilor seci). Vinurile roșii, de obicei conțin de două ori mai multe pentoze decît cele albe, deoarece ele trec în must prin hidroliza pentozanelor din părțile lemnoase ale strugurilor.

Dintre p o l i z a h a r i d e l e d e g r a d u l î n t î i însemnătate practică are dizaharida zaharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$). Ea se află în cantități mici, dar nu în toate soiurile. Se dizolvă bine în apă și alcool. Sub acțiunea fermentului β-fructofuranozidaza (invertaza) sau prin încălzire cu acizi (în raport exact cu concentrația ionilor de hidrogen în soluție) zaharoza se transformă în zahăr invertit, adică în amestec de cantități egale de glucoză și fructoză.

La temperatura de 180°C zaharoza se topește, iar la temperaturi mai ridicate formează așa-numitul caramel-amestec de substanțe de culoare brună, ce se folosește la vopsirea coniacurilor.

In afară de zaharoză în poamă se mai găsesc în cantități mici și alte polizaharide de gradul întîi: melibioza, maltoza, rafinoza.

Dintre p o l i z a h a r i d e l e d e g r a d u l d o i, ce se află în poamă, însemnătate practică au pentozanele, substanțele pectice, mucilaginoase, dextranul și celuloza.

Pentozane $(C_5H_8O_4)_n$ sînt și în părțile lemnoase ale strugurilor ciorchinelui, mai ales în semințe (4,0—4,5% din toată masa), ciorchini (1,0—2,8%), pieliță (1,0—1,6%). In sucul bobițelor ele practic nu se întîlnesc. In bobițe în mediu se găsesc 0,4—0,5%. In urma macerației și fermentației în vin trec pînă la 2 g/dm^3.

Celuloza $(C_6H_{10}O_5)_n$ este baza părților lemnoase ale strugurilor. Constă dintr-un număr mare (pînă la 10 000) de resturi ale glucozei. In apă e insolubilă.

Pentozanele, lignina, celuloza și hemiceluloza formează baza părților lemnoase ale strugurilor. De cantitatea lor depinde volumul de must căpătat dintr-o tonă de struguri — mărime de însemnătate mare în vinificație.

Din grupul substanțelor pectice fac parte poliozele macromoleculare (polizaharide de gradul doi), ce conțin în fond acid poligalacturonic legat cu zaharuri (pentozane), unele metale și grupe metoxile. Ele au o masă moleculară mare și posedă proprietăți coloidale bine pronunțate.

In timpul coacerii poamei protorectina insolubilă trece în pectină solubilă, datorită cărui fapt bobițele se înmoae. Pectina e puțin solubilă în alcool, de aceea în timpul fermentației, și mai ales în

urma alcoolizării mustului, ea parțial sedimentează în precipitat.

În urma fermentației alcoolice grupele metoxilice scindează de la pectină și formează alcool metilic. De aceea cantitatea lui e în relație direct proporțională cu durata contactului mustului cu boștina in timpul fermentației. O cantitate mare de alcool metilic o conține alcoolul produs din tescovină. Pectina formează substanțe insolubile cu calciul, proprietate ce se folosește la analiza lui cantitativă.

Acidul pectinic reprezintă acidul poligalacturonic macromolecular, parțial (40—80%) eterificat cu alcool metilic. În componența lui intră aproape 200 de resturi ale acidului galacturonic. Însuși acidul pectinic e puțin solubil în apă, iar sărurile lui alcaline sînt ușor solubile.

În componența acidului pectic au fost găsiți acizi pectinici fără de grupe metoxilice, care au proprietăți coloidale. Acidul pectic conține aproximativ 100 de resturi ale acidului galacturonic.

Poama și vinurile conțin toate grupele substanțelor pectinice. Mustul conține aproximativ 50% de pectină solubilă, 30% — acid pectinic, 20% — acid pectic.

Din restul polizaharidelor, ce se află în poamă, însemnătate practică o pot avea substanțele mucilaginoase (în must 0,3—0,4 g/dm^3), care au proprietăți coloidale de protecție bine pronunțate.

Dextranele sînt polimeri macromoleculari ai glucozei cu masa moleculară aproape de 1 mln și mai mult. Au proprietăți coloidale de protecție. Influențează asupra deplinătății și moliciunii gustului vinului. O cantitate mare de dextrane se află în vinurile preparate din poamă vătămată de *Botrytis cinerea*.

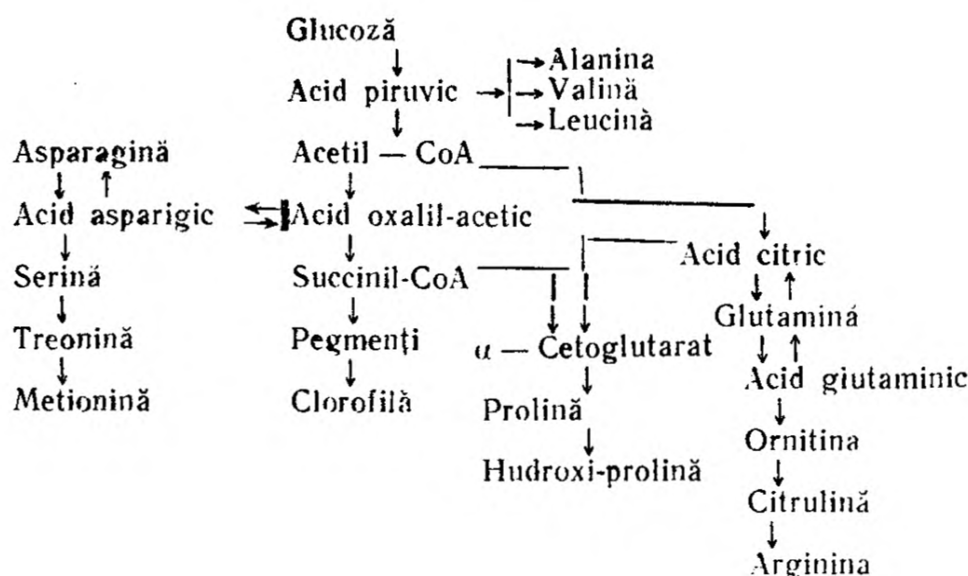
§ 3. Acizii organici, formarea și transformările lor

Poama conține următorii acizi organici:
tartric (1—8 g/dm^3);
malic (pînă la 22 g/dm^3);
citric (pînă la 0,7 g/dm^3);
succinic (pînă la 0,5 g/dm^3);
piruvic (20—70 g/dm^3);
formic (50—200 mg/dm^3);
acetic (20—50 mg/dm^3) și alții.

Cei mai principali sînt acizii tartric și malic. Lor li se datorează aciditatea mustului și vinului. Ei asigură aciditatea cu pH-ul=2,7—3,5, mediu care nu permite dezvoltarea microorganismelor dăunătoare și creează condiții favorabile pentru drojdii (ușor fermentează zahărul în mediu acid).

Acizii organici se formează în procesul respirației plantelor pe contul oxidării parțiale a hidraților de carbon și de asemenea în urma sintezei aminoacizilor.

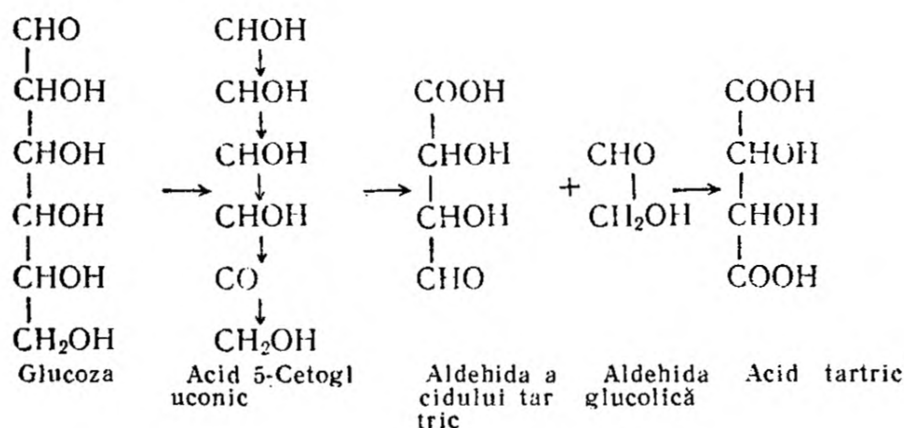
Între hidrații de carbon, aminoacizi și acizii organici există o legătură strînsă, ce e oglindită în schema 2.



Schema 2. Concesiunea dintre hidraţii de carbon, aminoacizi şi acizii organici.

Acizii organici se formează şi în urma fotosintezei în special în frunze, de unde se deplasează în bobiţele poamei.

J. Ribero-Gaion şi P. Ribero-Gaion, studiind mecanismul sintezei acidului tartric, au dovedit că el se formează din glucoză (schema 3).



Schema 3. Sinteza acidului tartric din glucoză

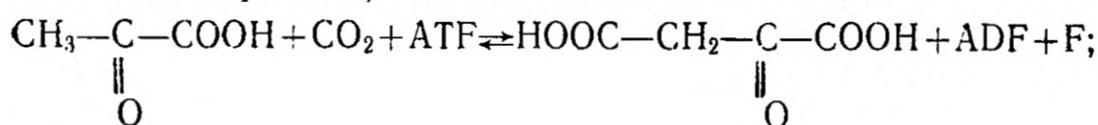
Acizii organici (malic, citric, succinic şi alţii) se mai formează în procesul ciclului acizilor di- şi tricarboxilici, aşa-numitului ciclu Krebs.

În 1936 Krebs a înaintat teoria despre acizii di- şi tricarboxilici (schema 4).

În acest ciclu decurg succesiv reacţii de oxidoreducere, în urma cărora are loc deplasarea hidrogenului sub influenţa dehidrogenazelor speciale.

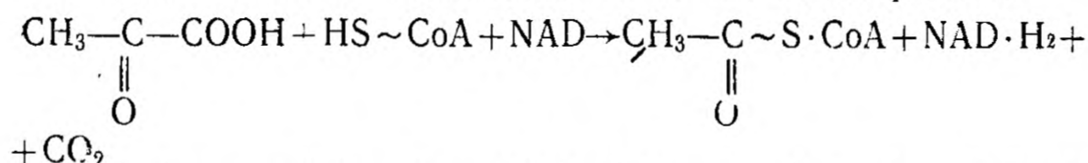
Acidul piruvic se include în acest ciclu prin două metode:

prima — sub influenţa fermentului carboxilaza are loc carboxilarea acidului piruvic şi formarea acidului oxalil-acetic:



$$CH_3{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}{-}COOH + CO_2 + ATF \rightleftarrows HOOC{-}CH_2{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}{-}COOH + ADF + F;$$

a doua — formarea acetil-coenzimei A din acidul piruvic:



$$CH_3{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}{-}COOH + HS{\sim}CoA + NAD \rightarrow CH_3{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}{\sim}S{\cdot}CoA + NAD{\cdot}H_2 + CO_2$$

Majoritatea acizilor din ciclul Krebs, în afară de acizii ciseconitic şi oxalil-acetic se găsesc în poamă.

Cu ajutorul izotopului radioactiv al carbonului ^{14}C au fost studiate transformările ulterioare ale acizilor organici ai poamei. S-a dovedit că cea mai mare parte a acidului tartric se consumă în timpul respiraţiei, pe cînd cel malic în afară de respiraţie ia parte la formarea zaharurilor, unor acizi organici şi aminoacizilor.

Acidul tartric ($H_2C_4H_4O_6$) e componentul cel mai principal şi permanent al mustului şi vinului.

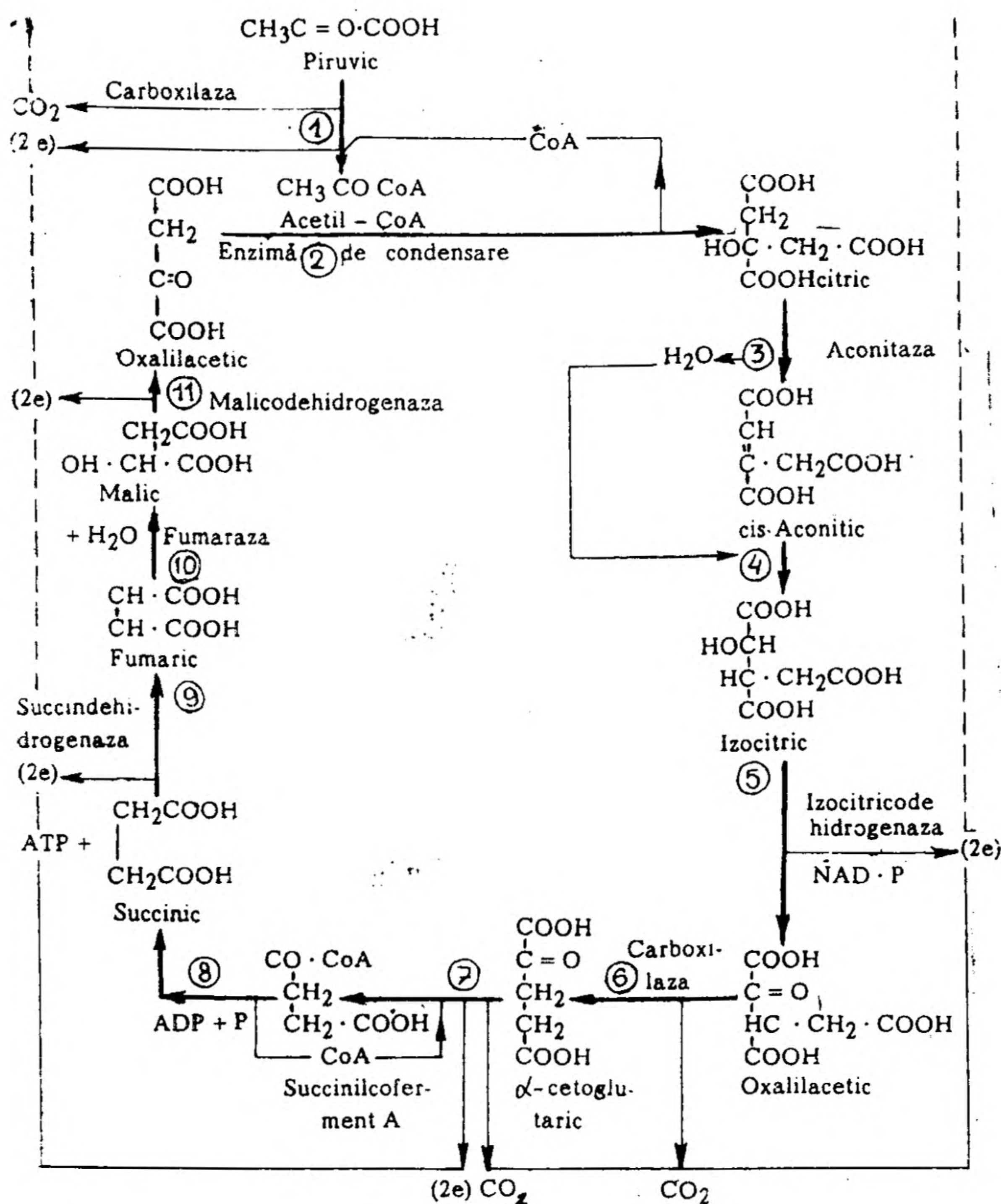
In sucul de poamă coaptă, în dependenţă de soi şi raionul cultivării, el constituie 40—95% din suma tuturor acizilor. Soiurile de poamă, în care predomină acidul tartric, în timpul coacerii au o aciditate titrabilă joasă şi constantă, care nu depinde în măsură mare de condiţiile meteorologice ale anului.

Acidul tartric are rotaţie dextrogiră. In poamă şi vin el se află sub trei aspecte: liber, sub formă de hidrotartrat de potasiu (tartrat acid de potasiu) $KHC_4H_4O_6$ şi sub formă de tartrat neutru de potaşiu ($K_2C_4H_4O_6$). Acidul tartric liber şi sarea neutră de potasiu sînt bine solubile în apă şi alcool (spirt); sarea acidă e puţin solubilă în apă şi aproape insolubilă în alcool. In timpul fermentaţiei şi alcoolizării o mare parte a acidului tartric formează un precipitat, din care ulterior el se extrage.

Pe măsura coacerii poamei cantitatea acidului tartric şi sărurilor lui scade în continuu.

Gradul de coacere al poamei se apreciază după mărimea aciditătilor titrabile şi actuale, cît şi după cantitatea zahărului. Poama se culege cînd aciditatea titrabilă atinge 8—11 g/dm³.

Pe măsura coacerii poamei cantitatea acidului malic ($H_2C_4H_4O_5$) scade mai repede decît cantitatea acidului tartric, şi în unele soiuri poate să dispară definitiv. De obicei în poama coaptă, destinată pentru prepararea vinurilor de masă, acidul malic alcătuieşte 20—50% din suma tuturor acizilor. In unele soiuri, de exemplu Saperavi, chiar foarte coapte, cantitatea acidului malic e mai mare decît a acidului tartric. Cantitatea acidului malic scade mai ales atunci, cînd în perioada coacerii e înaltă temperatura aerului. Soiurile de poamă, care conţin cantităţi mari de acid malic, au o aciditate titrabilă variată şi nestabilă.



Schema 4. Ciclul lui Krebs

Acidul malic e una dintre substanţele uşor oxidabile. În procesul fermentaţiei malolactice el se transformă în acid lactic.

Unii acizi în cantităţi mari se formează numai în poama atacată de ciuperca de mucegai *Botrytis cinerea*. Unul dintre ei e acidul gluconic $CH_2OH(CHOH)_4COOH$. În poama obişnuită el constituie 120 mg/dm^3, iar în poama vătămată (şi în vinul preparat din ea) — pînă la 2, uneori pînă la 10 g/dm^3. În poama vătămată se mai conţin şi acizii glucuronic ($CHO—(CHOH)_4—COOH$) (pînă la 1,3 g/dm^3) şi

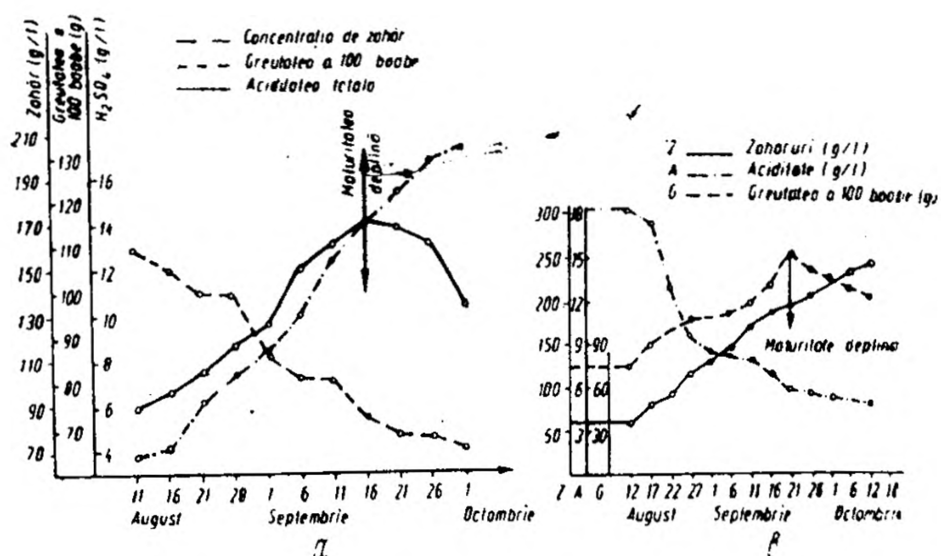


Fig. 48. Graficul procesului de maturitate a strugurilor:
a — la soiul Riesling italian;
b — la soiul Cadarcă.

mucic (COOH—(CHOH)$_4$—COOH) (pînă la 0,5 g/dm^3). Ultimul formează sarea de calciu insolubilă şi poate fi una din cauzele tulburării vinurilor.

Toţi acizii poamei în formă curată sînt substanţe cristaline.

§ 4. Graficul sumar al procesului de maturare a strugurilor

Pe măsura coacerii strugurilor cantitatea de zahăr în suc se măreşte, iar a acidităţii titrabile scade. Raportul dintre cantitatea zaharurilor (Z) şi a acidităţii titrabile (A) se numeşte indice glucoacidimetric $\frac{Z}{A}$. Valoarea lui creşte în continuu şi caracterizează maturitatea strugurilor.

Pe baza datelor obţinute în urma analizelor probelor medii, efectuate cîţiva ani la rînd, a fost alcătuit graficul procesului de maturare a strugurilor (fig. 48).

§ 5. Enzimele bobiţelor strugurilor. Rolul lor în maturarea strugurilor

Sistemele de enzime ale strugurilor şi vinului au fost studiate de către A. I. Oparin, N. M. Sisachean, S. V. Durmişidze, A. C. Rodopulo, V. L. Cretovici şi alţii.

O atenţie deosebită a fost acordată studierii enzimelor de oxidare. Ele au fost împărţite în trei grupe:

oxigenaze — ele alipesc la substrat ambii atomi de oxigen;

hidroxilazele — alipesc la substrat un singur atom de oxigen, iar al doilea atom de oxigen se reduce în apă pe contul a doi donori electronici;

oxidare electrono-transfiratoare — catalizează reducerea oxigenului molecular în apă sau în peroxid de hidrogen în urma a 4 sau 2 electroni.

Dintre oxidazele strugurilor mai profund sînt studiate cele electrono-transfiratoare. În struguri cea mai activă este *o*—Difenoloxidaza. Au fost descoperite şi ascorbinatoxidaza (A. C. Rodopulo), peroxidaza şi catalaza (N. M. Sisachean, A. C. Rodopulo).

Dintre dehidrogenaze N. M. Sisachean a descoperit în struguri malicodehidrogenaza, piruvatdehidrogenaza, dehidrogenaza acidului citric, dehidrogenaze ale amino-acizilor.

Au fost descoperite şi enzime pectolitice şi β — fructofurinozidoza.

Din clasa liazelor a fost descoperită piruvatdecarboxilaza acidului oxalil-acetic.

Rolul enzimelor în maturarea strugurilor şi în oenologie (vinificaţie). Enzimele de oxidare joacă un rol important în prepararea mustului şi vinului. În oenologie se practică intensificarea proceselor fermentative pentru prepararea vinurilor roşii şi de Cahetia, iar în procesul preparării celor de şampanie şi uşoare de masă ele sînt reţinute. Aceste procese au loc datorită sistemelor de enzime din struguri.

Interes deosebit în practica oenologiei prezintă enzimele strugurilor, care activează în procesul de prelucrare a strugurilor şi pregătirii vinului. Acestea-s în primul rînd enzimele de oxidare şi β — fructofuranozidaza. În afară de acestea unele liaze sînt produse de mucegaiurile ce se dezvoltă pe struguri, mai ales *Botrytis cinerea*. Liazele de oxidare ale ciupercilor de mucegai sînt mult mai active decît cele ale strugurilor.

Aceasta poate duce la casarea oxidazică sau brună, în cazul căreia substanţele fenolice sînt oxidate, transformîndu-se în compuşi insolubili de culoare galben-brună sau brun-cafenie. Ciupercile mai produc şi enzime pectolitice şi citolitice (ele distrug pereţii celulelor bobiţelor).

Ne vom opri asupra enzimelor principale ale bobiţelor strugurilor.

O — **Difenoloxidaza (polifenoloxidaza) (1. 10. 3. 1.).** Joacă un rol important la respiraţia viţei-de-vie şi în procesele de oxidoreducere din must. Catalizează reacţia de oxidare a polifenolilor (cu acces de aer) în chinone. Pe măsura coacerii poamei activitatea enzimei creşte. Ea e mai activă în miez, ciorchini şi pieliţă decît în seminţe. Se află mai mult în mustul căpătat prin presare decît în cel ravac.

Acidul sulfuros inhibează enzima.

Ascorbinatoxidaza (1. 10. 3. 2). Catalizează oxidarea acidului

ascorbic în dehidroascorbic. Pe măsura maturării poamei activitatea enzimei scade. În bobițele coapte ea e puțin activă.

Catalaza (1. 11. 1. 7). Catalizează scindarea peroxidului de hidrogen. A fost descoperită în multe soiuri de poamă. În procesul de maturare a poamei activitatea ei crește, iar spre sfîrșit scade. În timpul fermentării alcoolice catalaza se inactivează.

Peroxidaza (1. 11. 1. 7). Catalizează oxidarea fenolilor și a aminelor aromatice în prezența peroxidului de hidrogen. În urma strivirii strugurilor ea trece în must. Se găsește mai mult în mustul căpătat prin presare decît în cel ravac. În urma fermentării alcoolice activitatea ei scade.

β — **Fructofuranozidaza (invertaza, zaharoza)** (3.2.1.26). Este o hidrolază. Catalizează hidroliza zaharozei în glucoză și fructoză. Are o rezistență înaltă în diferite acțiuni.

Despre celelalte enzime veți afla în alte compartimente ale manualului.

§ 6. Substanțele odorante (uleiurile eterice) ale strugurilor

Uleiuri eterice (U.E.) sînt numite un grup mare (circa 1500) de substanțe organice de origine vegetală, foarte diverse după componența chimică, dar cu o proprietate comună — posedă miros (aromă) bine pronunțat, plăcut.

În componența U.E. a fiecărei plante intră 6—10 și mai mulți componenți, adică diferite substanțe organice, combinarea cărora îi atribuie plantei un miros caracteristic (liliac, iasomie, lăcrimioară etc.).

U.E. posedă unele proprietăți comune. Ele greu se dizolvă în apă, sînt bine solubile în spirt și în eterii sulfuric și de petrol. Se distilează împreună cu vaporii de apă, ceea ce se și află la baza preparării și purificării lor industriale. Sînt bine absorbite de cărbunele activat. De obicei în componența U.E. intră substanțe cu punctul de fierbere nu prea înalt.

Studierea U.E. a început comparativ nu demult — în a doua jumătate a secolului nostru. Succese au fost căpătate în ultimii 15—20 de ani grație folosirii cromatografiei și spectometriei.

Dificultatea studierii U.E. a strugurilor constă în următoarele. Cantitatea totală a lor în bobițe este neînsemnată, aproximativ 60—120 mg/kg. Conținutul însă a unor componenți nu depășește 18 mg/kg, fiind de 0,3—3,0 mg/kg;

Raportul U.E. în diferite soiuri de struguri diferă; în procesul eliminării ușor se schimbă; timp îndelungat nu exista metodă practică de separare a U.E. nici chiar cantitatea lor sumară nu putea fi apreciată din lipsa de metodică.

În prezent în țară și peste hotare au fost efectuate un șir de cercetări în domeniul studierii U.E. a strugurilor, mustului și vinului. Ca rezultat au fost descoperiți 80 de componenți, ce alcătuiesc U.E.

Componența U.E. depinde de soiul de viță. În unele soiuri au fost găsiți de la 20 pînă la 50 componenți. Astfel calitatea strugurilor

e dependentă direct proporţional de componenţa U.E. Au fost găsiţi alcooli monoatomari, acizi monobazici, care formează eteri, aldehide, terpeni, substanţe ciclice, în special alcool — fenil-etilic şi linalool.

U.E. se află de regulă în pieliţă. Prin aceasta se şi explică procedeul vechi din vinificaţie — maceraţia la prepararea vinurilor din soiuri de viţă aromate, mai ales a celor tămîioase (muscat).

U.E. din vinuri uşor trec în distilat în urma distilării, alcătuind partea componentă de bază a coniacurilor. Din cauza oxidării uşoare a U.E. vinurile tămîioase şi aromatizate trebuie ocrotite de oxidare, în toate etapele de preparare folosind SO_2.

Comparativ puţine soiuri de viţă (Muscat) posedă o aromă bine pronunţată. Multe soiuri de vin, mai ales cele recomandate pentru şampanie (grupa Pino, Risling, Traminer etc.) posedă o aromă slabă, dar fină, care se transmite vinului. Multe soiuri americane şi hibrizii lor, în special Isabella, Lydia, Noa, posedă o aromă puternică de fragă datorită eterului metilic al acidului antranilic. Această substanţă îşi păstrează aroma în suc şi în vinul dulce, iar în urma fermentaţiei alcoolice se schimbă radical şi vinurile seci capătă o nuanţă nu prea plăcută.

U.E. ale strugurilor trec în vin atît în formă schimbată, cît şi neschimbată, determinînd aroma (buchetul) lor care e apreciată în timpul degustării.

Cantitatea U.E. ale strugurilor depinde şi de gradul lor de coacere. Intr-un şir de soiuri de şampanie cantitatea maximă de U.E. se acumulează cînd ele ating gradul de coacere tehnic (16—18% de zahăr). In alte soiuri acest maximum e atins la zaharitatea de 20—23%. In cazul răscoacerii strugurilor cantitatea U.E. în toate soiurile scade. Mecanismul de biosinteză a U.E. pînă ce e puţin studiat. Se presupune că substanţele iniţiale pot fi produsele descompunerii şi glucidelor.

§ 7. Substanţele azotate ale strugurilor

Substanţele azotate ale strugurilor şi mustului lor sînt formate din substanţe organice şi neorganice.

Substanţele organice azotate — proteinele, polipeptidele, aminele, amidele etc.— intră în componenţa fiecărei celule vii. Ele se găsesc în toate părţile componente ale strugurilor (tabelul 3).

Proteinele. Se împart în două grupuri de bază: proteine (albumine simple, formate numai din aminoacizi) şi proteide (proteine complicate, în componenţa cărora în afară de aminoacizi mai intră şi alte substanţe de origine neproteică). In dependenţă de natura chimică a grupului neproteic (prostetic) proteidele se împart în lipoproteide, glicoproteide, cromoproteide şi nucleoproteide.

In componenţa proteinelor intră albumine, globuline, prolamine, gluteine (diferă după solubilitate). Substanţele azotate ale strugurilor şi vinului sînt reprezentate în temei de proteide. In componenţa părţii proteinale a lor intra 17 aminoacizi, printre care prevalează li-

Tabelul 3

Substanțele azotate ale strugurilor și vinului
(după I. M. Skurihin)

Grupul de substanțe	Cantitatea în struguri			Cantitatea în vinuri					
				albe			roșii		
	mg/l	mg/l de azot	în % față de cantitatea totală	mg/l	mg/l de azot	în % față de cantitatea totală	mg/l	mg/l de azot	în % față de cantitatea totală
Săruri amoniacale	25—150	20—120	3—15	0—25	0—20	0,5	0—25	0—20	0—2
Aminoacizi	850—5100	100—600	30—60	340—2550	40—300	20—50	340—4250	40—500	20—70
Amide	50—200	10—40	1—4	5—100	1—20	1—5	5—20	1—20	0—2
Polipeptide	700—2800	100—400	20—40	420—2100	60—300	30—50	400—2100	60—300	20—50
Proteine	50—700	7—100	2—12	35—350	5—50	10—15	20—200	10—30	1—5
Alte substanțe azotate	210—700	30—100	5—10	140—350	20—50	6—12	210—700	30—100	10—20
Cantitatea totală	1000—2300	300—1000		700—3500	300—600		1500—6100	200—800	

zina (6—14%) şi acidul asparagic (12—20%). Masa moleculară a proteinelor srtugurilor e comparativ mică. Astfel 60—90% alcătuiesc fracţiunea micromoleculară cu masa moleculară aproximativ 10 000, iar restul au masa moleculară 24—47 mii. Punctul izoelectric al proteinelor strugurilor se află în limitele pH-ului 2,8—4,2 şi depinde de soiul de viţă.

Proteinele se acumulează aproape de coacerea deplină a strugurilor. Conţinutul lor în bobiţe depinde de soiul viţei şi de sol.

Proteinele sînt cele mai labile substanţe ale strugurilor, de aceea în timpul prelucrării pot fi uşor supuse celor mai diverse schimbări, inclusiv, coagulîndu-se la temperaturi înalte, pot cauza tulburarea vinurilor şi sucurilor.

Comparînd cantitatea proteinelor în 11 soiuri de viţă din două regiuni ale Crimeei (Malul de sud şi Premuntoasă), s-a constatat că în dependenţă de soi uneori într-o regiune ea e mai mare, iar în alta — mai mică. În medie însă strugurii din regiunea Premuntoasă conţin mai multe proteine (în mg/l):

	Malul de sud	Regiunea Premuntoasă
Minimal	40	40
Maximal	270	350
În medie	124	173

Proteinele strugurilor sînt adsorbite de bentonită. Acest proses stă la baza întrebuinţării bentonitei pentru stabilizarea vinurilor împotriva tulburărilor proteice.

Mecanismul biosintezei proteinelor a fost descoperit abia în a doua jumătate a secolului XX datorită succeselor în domeniul biologiei moleculare. Sinteza proteinelor are loc cu participarea acizilor nucleici.

Acizii nucleici se împart în ribonucleici şi dezoxiribonucleici. Ei au fost numiţi aşa după conţinutul de glucide, pe care le conţin— riboza în cei ribonucleici (ARN) şi dezoxiriboza în cei dezoxiribonucleici (ADN). Acizii nucleici sînt compuşi macromoleculari. Masa moleculară a ARN variază între 20—50 mii şi pînă la 2 mln., iar a ADN atinge 5—8 mln.

Sinteza proteinelor are loc în ribozomi cu acidul ribonucleic de informaţie ($_i$ARN), care se sintetizează pe matriţa ADN (purtător de ereditate). Deplasarea aminoacizilor activaţi se realizează cu ajutorul ARN de transportare ($_t$ARN).

Studierea acizilor nucleici din struguri a dovedit că în frunze şi în coardă se află numai ARN, iar în seminţe — ADN.

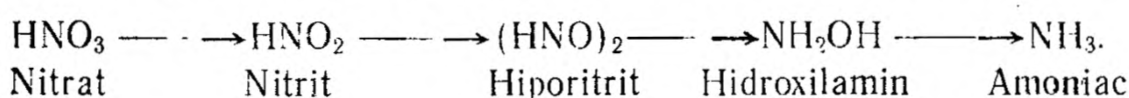
Polipeptidele sînt polimeri ai aminoacizilor, substanţe solide cu masa moleculară mai mică de 10 000. Alcătuiesc aproximativ 30% din substanţelo azotate ale strugurilor şi vinului. În urma hidrolizei formează aminoacizi.

Amidele constituie 1—5% din substanţele azotate ale strugurilor. În vinuri au fost găsite circa 25 de amide — primare, secundare şi terţiare.

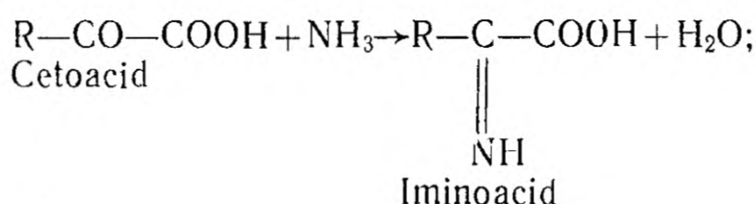
In struguri au mai fost găsite şi alte substanţe azotate organice: acizi nucleici, nucleozide şi nucleotide.

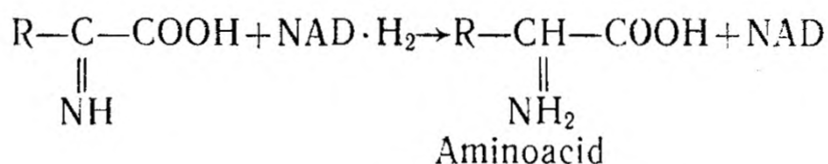
Aminoacizii. Acest grup de substanţe organice azotate din struguri e cel mai mare şi mai important. Ele stau la baza nutriţiei levurilor şi a altor microorganisme, datorită cărui fapt la sfîrşitul fermentaţiei alcoolice aproximativ o jumătate din aminoacizi trec în masa levurială şi, ulterior, sînt înlăturaţi odată cu primul pritoc. In procesul de dezaminare (în timpul fermentaţiei alcoolice şi a altor procese biochimice) de la ei se separă restul ce nu conţine azot, în special diferiţi alcooli, care influenţează simţitor asupra componenţei şi calităţii vinului.

In plante aminoacizii se formează în urma aminării cetoacizilor cu amoniacul care ia naştere la reducerea fermentativă a nitraţilor:



Interacţiunea amoniacului cu cetoacizii se petrece în două etape:





Aminoacizii se mai pot forma şi în urma reacţiei de reaminare. Astfel acidul glutaminic, transmiţîndu-şi grupul amin acidului piruvic, formează alanina.

In plante aminoacizii se mai formează pe calea transformării fermentative a unui acid în altul. Spre exemplu, în urma decarboxilării acidului glutaminic se formează acidul γ — aminobutiric, iar a acidului asparagic — alanina. In urma oxidării prolinei cu oxigenul din aer se formează oxiprolina.

După părerea lui S. V. Durmişidze şi O. T. Hacidze, biosinteza aminoacizilor are loc în rădăcini, ceea ce se confirmă prin componenţa identică a aminoacizilror în rădăcini şi în struguri.

In decursul întregii perioade de vegetaţie cantitatea metioninei şi a acidului asparagic creşte, ceea ce duce la acumularea substanţelor metilate în struguri. In perioada înfloririi viţei-de-vie principalul purtător al azotului organic este acidul asparagic.

La începutul coacerii strugurilor bobiţele conţin puţini aminoacizi. In procesul coacerii calitatea şi cantitatea lor se schimbă esenţial (tabelul 4).

Tabelul 4

Schimbarea cantității unor aminoacizi și a amoniacului în procesul coacerii strugurilor, mg/l

Aminoacizii	Data determinării									
	8/VIII	15/VIII	29/VIII	5/IX	12/IX	14/IX	26/IX	3/X	10/X	17/X
Alanina	55	34	111	398	293	465	366	580	368	302
Arginina	350	842	853	853	1862	1330	1450	1671	1712	2020
Acidul asparagic	105	133	114	109	72	133	62	90	81	94
Valina	—	+	+	+	+	+	5	20	14	10
Gistidina	—	78	—	—	20	44	28	35	44	45
Glicina	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Izoleicina	+	+	+	+	+	+	18	42	42	22
Leicina	+	+	+	+	+	+	24	55	55	56
Lizina	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+
Metionina	—	+	—	—	+	—	+	60	60	60
Prolina	—	+	40	185	260	300	317	532	535	505
Serina	620	435	265	546	342	570	670	830	556	517
Tirozina	—	+	—	+	+	—	+	+	+	+
Treonina	+	+	57	43	43	80	80	156	137	101
Fenilalanina	+	+	+	+	+	54	71	116	116	120
In total	1873	2000	2032	2620	2278	3464	3613	4881	4159	4286
Amoniac	—	255	201	51	67	104	87	75	56	63

Notă. + se găsesc numai urme; — lipsesc.

La începutul coacerii strugurilor aminoacizii se consumă la formarea proteinelor, iată de ce între 5/IX și 12/IX cantitatea totală a aminoacizilor se micșorează.

La formarea unor aminoacizi în timpul coacerii strugurilor contribuie microelementele solului: borul, zincul, manganul etc.

Insuficiența de zinc, de pildă, duce la micșorarea cantității acidului glutaminic, tirozinei, în special a fenilalaninei. In sucul de struguri au fost găsiți aminoacizi din seria L (tabelul 5).

Dintre substanțele minerale azotate în sucul de srtuguri (și în vin) se întîlnesc amoniacul și nitrații. Cantitatea amoniacului (sărurilor de amoniu) în struguri e de 25—150 mg/l, sau, recalculat în azot, 20—120 mg/l, ceea ce constituie 3—15% din catitatea totală a azotului. La începutul coacerii strugurilor cantitatea sărurilor amoniacale atinge 50% din cantitatea totală de azot. In timpul coacerii strugurilor ele se consumă la sinteza aminoacizilor.

Cantitatea nitraților e doar de 5—6 mg/l.

TABELUL 5

CONŢINUTUL UNOR AMINOACIZI ÎN STRUGURI ŞI VIN, mg/l

Aminoacizi		Struguri	Vin
Alanina	$CH_3-CH(NH_2)-COOH$	60—300	10—150
Arginina	$H_2N-C(=NH)-HN-CH_2-(CH_2)_2-CH(NH_2)-COOH$	100—800	5—130
Acidul asparagic	$HOOC-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	10—150	5—100
Acidul γ - aminobutiric	$NH_2-(CH_2)_3-COOH$	0—20	5—100
Valina	$(H_3C)_2>CH-CH(NH_2)-COOH$	10—60	5—50
Gistidina	$HC=C-CH_2-CH-COOH$ $\vert \quad \vert \qquad\quad \vert$ $N \quad NH \qquad NH_2$ $\diagdown \diagup$ CH	10—80	5—50
Glicina	$CH_2(NH_2)-COOH$	5—25	5—20
Acidul glutaminic	$HOOC-(CH_2)_2-CH(NH_2)-COOH$	100—500	30—300
Izoleicina	$(C_2H_5)(CH_3)>CH-CH(NH_2)-COOH$	20—80	5—50
Lizina	$H_2C(NH_2)-(CH_2)_3-CH(NH_2)-COOH$	20—100	5—50
Leicina	$(H_3C)_2>CH-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	5—60	5—50
Metionina	$H_3C-S-(CH_2)_2-CH(NH_2)-COOH$	5—50	1—40
Prolina	H_2C-CH_2 $\vert \qquad \vert$ $H_2C \diagdown \diagup CH-COOH$ NH	50—800	50—750
Serina	$OH-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	20—500	5—150

Continuarea tabelului 5

Aminoacizi	Struguri	Vin
Tirozina $HO-C_6H_4-CH_2-CH(NH_3)-COOH$	5—50	5—30
Treonina $H_3C-CH(OH)-CH(NH_2)-COOH$	5—250	30—150
Triptofanul $C_8H_6N-CH_2-CH(NH_2)-COOH$	5—50	1—20
Fenilalanina $C_6H_5-CH_2-CH(NH_3)-COOH$	10—100	5—70
Cisteina $CH_2(SH)-CH(NH_2)-COOH$	5—50	1—40

§ 8. Compuşii fenolici

Strugurele conţine un şir (circa 50 de feluri) de compuşi fenolici (tabelele 6 şi 7), inclusiv substanţe tanante şi colorante, reprezentanţii cărora sînt fenolii, polifenolii, antocianii, leucoantocianii etc.

Compuşii fenolici joacă un rol important în componenţa şi calitatea vinurilor, mai ales ale celor roşii. Ele se găsesc în special în părţile dure ale strugurelui — seminţe, pieliţă, ciorchini. Cantitatea lor creşte repede în timpul coacerii strugurilor, adică odată cu începerea înmuierii bobiţei, şi continuă să crească pînă la coacerea deplină. La soiurile roşii, în special, mai întîi apar unele boabe colorate, apoi toate boabele capătă o culoare intensivă şi uniformă, caracteristică pentru strugurii copţi deplin. Cantitatea compuşilor fenolici în strugure depinde de soi şi de gradul de coacere al strugurilor. Se ştie că unele soiuri de viţă (roşii) conţin o cantitate mare

Tabelul 6

ACIZII FENOLICI DIN MUST

Denumirea	Formula structurală		mg/1000 boabe	mg/1 vin	Observații
Acizi fenolici – Acizii hidroxibenzoici	HO–C₆H₂(R)(R′)–COOH Acizi p-hidroxibenzoici	R = R′ = H Acid o-hidroxibenzoic R = OH; R′=H Acid pirocatechic $R = OCH_3$; R′ = H Acid vanilic R = R′ = OH Acid galic R = R′ = OCH_3 Acid siringic	0,1 urme 0,1-0,3 urme urme	0,5-1 0,5-8 1,2-1,5 12 30	
	(OH)(R)C₆H₃–COOH Acizi o-hidroxibenzoici	R = H Acid salicilic R = OH Acid gentisic	– –	0,6-2,5 0,1-0,2	Formează combinații de tip ester de natură necunoscută
Acizi hidroxicina	HO–C₆H₄–CH-CHCOOH Acizi hidroxicinamici	R = H Acid p-cumaric R = OH Acid cofeic R = OCH_3 Acid ferulic	0,5-12 0,1 0,2-0,5	0,5-030 0,2-15 1-3	Formează combinații de tip ester cu antociani. Cu acidul tartric formează acizii p-cumaril tartric și ferulil tartric

Tabelul ?

SUBSTANȚELE TANANTE ȘI COLORANTE DIN MUST

	Denumirea	Formula structurală	mg/l vin		Observații
			alb	roșu	
Substanțe tanante	Taninuri nehidrolizabile	R = OH; R′ = H catechina R = R′ = OH galocatechina Catechine /3 – Flavonoli/	100-400	1500-5000	Prin esterificarea grupei hidroxil de la C_3 cu acid galic rezultă catechingalatul și respectiv epigalocatechingalatul
		R = OH; R′ = H leucocianidine R = R′ = OH leucodelfinidina Leucoantocianidine /3,4 – Flovandioli/			
Substanțe colorante	Flavone	R = R′ = H kaemferol R = OH; R′ = H quercitina R = R′ = OH miricetina	urme	15	
	Antoci – anidine	R = OH, R′ = H, cianidina R = OCH_3, R′ = H poenidina R = R′ = OH delfinidina R = OCH_3, R′ = OH petunidina R = R′ = OCH_3 malvidina	0	20-300	

de substanțe colorante, altele (albe) însă nu conțin deloc. Mai este și un grup intermediar — soiurile roze. Majoritatea soiurilor roșii pigmentul colorant îl conțin în pieliță și numai la unele (Saperavi, Tentiurie, hibrizii Zeibeli)— și în suc.

Compușii fenolici sînt ușor oxidabili și foarte labili. Ei acționează asupra culorii, gustului și buchetului vinurilor, asupra rezistenței lor față de dezvoltarea unor microorganisme străine vinurilor.

Cea mai mare cantitate de compuși fenolici se află în semințele strugurilor. Conform unor date, cantitatea totală a fenolilor în semințele verzi alcătuiește 7—18%, iar în pieliță — 2—4%.

Conținutul total al compușilor fenolici în pieliță și a substanțelor tanante și colorante luate aparte prezintă un mare interes practic, deoarece din părțile dure ele ușor trec în must și vin.

Conținutul lor în ciorchini nu importă, deoarece ciorchinii sînt separați de bobițe chiar la începutul prelucrării strugurilor.

Schimbarea conținutului compușilor fenolici în timpul coacerii soiului Saperavi (de la 21 iulie pînă la 4 octombrie) e reprezentată în tabelul 8.

Distribuirea substanțelor tanante prin diferite componente structurale ale strugurilor, dedusă pe baza analizelor a 19 soiuri de struguri, e reprezentată în tabelul 9.

Tabelul 8

Schimbarea conținutului substanțelor tanante în timpul coacerii soiului Saperavi, mg în 100 g de substanță uscată

Fracții	Pieliță	Pulpă	Semințe	Ciorchini
A. Solubile în apă				
Tanină	185,8/85,3	62,9/5,3	246,0/111,1	223,4/127,0
Polifenoli	14,4/2,7	23,9/1,1	22,8/2,3	10,6/2,5
Cantitatea generală (I)	200,2/88,0	86,8/6,4	268,8/11/,4	234,0/129,5
B. Solubile în alcalini (II)	46,4/5,9	54,7/7,1	52,3/147,0	77,6/15,3
Suma (I+II)	246,6/93,9	141,5/13,5	321,1/128,1	311,6/144,3

Notă. La numărător sînt datele de pînă la începutul coacerii, la numitor — în momentul recoltării.

Tabelul 9

Cantitatea substanțelor tanante în diferite componente structurale ale strugurelui, substanță uscată

Indici	Pulpă	Pieliță	Semințe	Ciorchini
Minimum	0,6	4,3	7,2	8,5
Maximum	3,2	12,5	17,4	17,6
În medie	1,6	7,0	12,0	12,5
În medie în % față de cantitatea generală	5,0	23,0	35,0	37,0

Cea mai mare cantitate de substanţe tanante (72%) se află în ciorchini şi pieliţă. Însă recalculat în masa verde rezultatul va fi altul, deoarece ciorchinii conţin circa 80% apă.

Majoritatea compuşilor fenolici (antocianidinele, antocianii, flavonele etc.) sînt absorbiţi uşor de cărbunele activat, ceea ce se şi foloseşte la determinarea cantităţii lor.

Există diferite ipoteze ale biosintezei compuşilor fenolici în plante. Bunăoară, S. P. Costîcev şi alţi savanţi îmbină formarea compuşilor fenolici cu metabolismul proteic. Ei consideră că transformarea aminoacizilor aromatici în compuşi fenolici e legată de hidroliza substanţelor proteice şi de dezaminarea aminoacizilor.

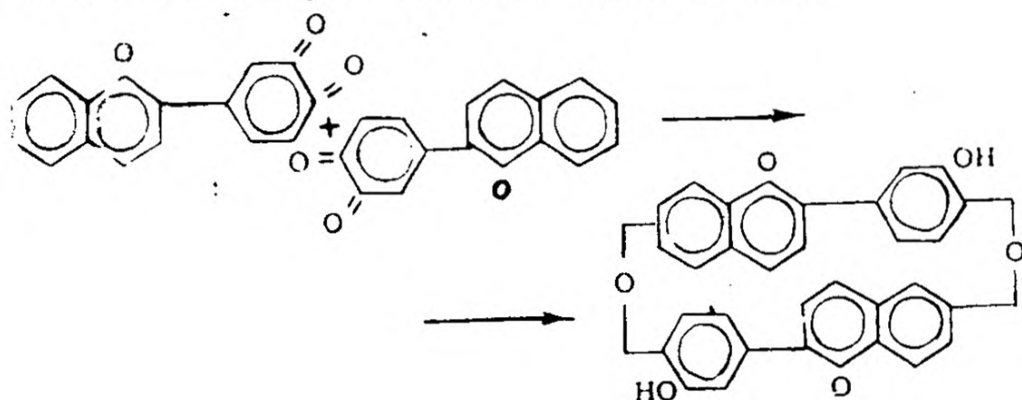
Cea de a doua ipoteză îmbină formarea compuşilor fenolici cu metabolismul glucidic. A. L. Kursanov a propus teoria formării compuşilor fenolici din zahăr prin formarea inozitei.

În prezent se consideră că formarea catechinei are loc în felul următor: acidul piruvic, format în urma descompunerii glicolitice a glucidelor, e supus decarboxilării de oxidare, astfel se formează acidul acetic, care se activează, transformîndu-se în acetil — CoA, acesta se condensează şi se formează inelul floroglucinic.

M. N. Zaprometov a dovedit că compuşii fenolici se formează în frunze şi în lăstarii tineri. Formarea lor are loc în cloroplaste şi e strîns legată de procesul de fotosinteză.

Toate transformările compuşilor fenolici se bazează pe proprietatea lor de a se oxida uşor în prezenţa enzimelor cateholoxidaza şi peroxidaza. Catechinele sînt capabile de a se autooxida în soluţii apoase, mai ales cînd pH-ul e 5—7. Oxidarea compuşilor fenolici în mediul acid şi în mediul bazic diferă şi duce la formarea diferitelor produse.

În urma combinării antocianidinelor cu una sau două molecule de chinone, care sînt supuse condensării (dimerizării):



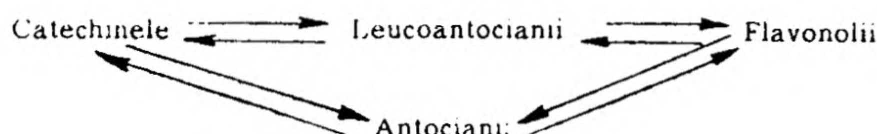
Atît în urma autooxidării, cît şi în urma oxidării fermentative, are loc adiţia oxigenului şi degajarea dioxidului de carbon.

La oxidarea în mediu bazic participă atît oxigenul din aer, cît şi oxigenul din apă. La oxidarea fermentativă participă numai oxigenul din apă.

În urma combinări antocianidinelor cu una sau două molecule de monoze (de obicei cu glucoza) se formează derivaţii — antocianii

(mono- şi diglicozide), ei deasemenea au culoare roşie, care în mediu bazic trece în albastră.

Antocianii şi antocianidinele sînt strîns legate între ele prin reacţiile de tranziţie reciprocă. Aceasta a fost dovedit de S. V. Durmişidze şi se poate reprezenta astfel:



Antocianii împreună cu antocianidele alcătuiesc substanţele colorante ale strugurilor şi vinurilor roşii. Studierea detailată a unor mono- şi diglicozide din ultimii ani a arătat că soiurile de viţă europeană conţin numai monoglicozide. Soiurile americane şi hibrizii lor conţin mono- şi diglicozide diferite în raporturi diverse (tabelul 10).

În timpul coacerii strugurilor se observă micşorarea cantităţii monoglicozidelor şi creşterea cantităţii diglicozidelor, iar în soiurile europene se schimbă raportul între antociani şi antocianide (monoglicozide).

Acumularea substanţelor colorante în pieliţa soiurilor rozii depinde în mare măsură de energia fotosintezei. Se ştie că vinurile roşii, preparate în regiunile vinicole sudice, au o culoare foarte intensă.

Pentru fabricarea vinului roşu cu o culoare intensă sînt necesare 200—300 mg/l substanţe colorante. Uneori cantitatea lor atinge 500 mg/l.

Compuşii fenolici ai lemnului de stejar pot trece în suc şi vin în urma păstrării acestora în vase de stejar. Asupra extracţiei compuşilor fenolici acţionează temperatura lichidului şi cantitatea de spirt din el. Practic trecerea compuşilor fenolici în vin are loc numai în urma păstrării vinurilor tari (17—20 vol % de spirt) la o temperatură înaltă (pînă la 60°C), în aşa condiţii decurge şi maderizarea.

Tabelul 10

Conţinutul mono- şi diglicozidelor în soiurile de viţă-de-vie americană şi europeană, % faţă de cantitatea generală

Struguri	Monoglicozide	Diglicozide
Rotundifolia (american)	0	100
Monticola (american)	100	0
11 soiuri americane	17—96	4—83
Soiuri europene	100	0

Compuşii fenolici ai lemnului de stejar au o importanţă deosebită în timpul păstrării distilatelor din vin pentru coniac, cărora le dă culoare, gust şi influenţează asupra aromei lor datorită vanilinei ce se formează în urma etanolizei (descompunere alcoolică) lemnului de stejar.

Masa moleculară a taninelor din vin (aşa se numesc compuşii fenolici formaţi din 2—14 molecule de flavonoizi — catechine, leicoantocianidine — cu masa moleculară de la 500 pînă la 4000) e în dependenţă directă de vîrsta vinului. În vinurile roşii bătrîne culoarea roşie treptat trece în galben datorită oxidării complete a pigmenţilor antocianici şi sedimentării lor, în vin rămîn doar taninele de condensaţie diferită (masa moleculară nu depăşeşte 4000, deoarece moleculele mai mari îşi pierd solubilitatea). Culoarea galbenă a vinului e datorită taninelor.

Proprietatea caracteristică taninelor este gustul astringent, caracteristic pentru vinurile de masă roşii şi pentru cele de Kahetia (vinuri albe, preparate în urma fermentaţiei pe bostină).

§ 9. Substanţele minerale ale strugurilor

Cantitatea sumară a elementelor chimice din struguri şi vin (în cenuşă) variază. În sucul de srtuguri sînt 3—5 g/l, în vinuri mai puţin: 2—3 g/l, deoarece o parte a elementelor minerale sînt folosite de levuri în timpul fermentaţiei, iar altă parte sedimentează. Elementele minerale sînt o parte componentă obligatorie a tuturor celulelor vii: ele se află în toate componentele structurale ale strugurilor, în special cantitatea lor e mai mare în componentele lemnoase.

Determinarea unor elemente în cenuşa strugurilor, în suc şi în vin se practică de demult. Însă în ultimii 25 de ani elementele minerale, conţinutul cărora e mai mic de 1 mg/l, au fost studiate profund şi sînt unite prin denumirea de microelemente. Rezultatele contemporane despre compoziţia minerală a strugurilor sînt reprezentate în tabelele 11 şi 12.

Elementele minerale, în special kaliul care alcătuieşte cea mai mare parte dintre cationi, leagă o parte din acizii liberi ai sucului de struguri, mărind astfel aciditatea lui netitrabilă. Sucul de struguri (şi vinul) conţine un şir de acizi şi de cationi, care nu pot fi socotiţi aparte. În acest caz reieşim din concentraţia acizilor, gradul lor de disociere, cantitatea cationilor, mărimea pH-ului lichidului.

Elementele minerale pot influenţa asupra gustului strugurilor şi vinului atît direct, cît şi indirect, prin intermediul acizilor. Spre exemplu, în vinurile de pe solurile cu salinitatea înaltă excesul de clorură de natriu îi atribuie vinului un gust puţin sărat care se evidenţiază mai ales în vinurile seci. Prelucrarea boştinei cu ghips contribuie la sporirea cantităţii sulfatului de kaliu în vin, datorită cărui fapt vinurile heres capătă un gust iute.

Microelementele au o însemnătate mare şi de aceea că intră în componenţa enzimelor. Spre exemplu, cuprul şi fierul intră în com-

Tabelul 11

Conținutul cationilor și anionilor în sucul de struguri și vinuri, mg/l

Elementul	Sucul	Vinul
K	400—2000	100—1000
Na	20—200	10—200
Ca	20—250	20—200
Mg	40—250	30—150
Fe	1—10	1—20
Cu	0,2—4,0	0,2—3,0
Zn	0,2—1,0	0,1—1,0
Mn	0,5—15	0,2—10
Al	0,5—50	0,3—3,0
Pb	0,1—1,0	0,05—0,5
Rb	0,3—4,0	0,2—2,0
Mo	0,01—0,1	0,01—0,1
Ti	0,01—0,1	0,01—0,1
As	0,01—0,3	0,01—0,2
Co	0,01—0,1	0,001—0,01
Sr	0,05—1,0	0,01—0,3
Sn	0,01—1,0	0,01—1,0
PO_4	50—1300	30—500*
		150—1000**
SiO_3	6—80	5—60
BO_3	5—100	5—80
SO_4	50—300	150—600
CO_3	80—500	100—1000
Cl	50—300	10—300
Br	0,2—2,0	0,5—1,0
I	0,1—0,5	0,2—1,0
F	0,1—5,0	0,1—5,0
SO_3	0,1—5,0	10—300
NO_3	5—20	5—20

* În vinurile albe.
** În vinurile roșii.

Tabelul 12

Distribuirea substanțelor minerale în diferite componente structurale ale strugurilor; % față de masa cenușii

Substanțe minerale	Ciorchini	Pielița	Semințe	Sucul pulpei
K_2O	54—62	50—60	23—41	50—70
Na_2O	1—7	0,5—6,0	1—6	1—2
CaO	10—21	5—17	2—42	3—8
MgO	3—8	pînă la 7	2—10	3—8
P_2O_5	6—10	7—30	7—44	8—20
Si_2O_3	4—6	9—11	2—12	3—8
Cl	pînă la 1	pînă la 0.8	pînă la 2	pînă la 1
SiO_2	1—7	1—6	1—7	1—2

ponența cateholoxidazei, peroxidazei, catalazei și a altor enzime. Magneziul a fost găsit în β — fructofuranozidază și e foarte necesar fosfochinazei, fosfotazei etc.

În timpul coacerii strugurilor sub influența manganului mai repede are loc inversia zaharozei, datorită cărui fapt crește cantitatea glucozei și fructozei. Sub influența manganului se acumulează mai multă fructoză, sporește cantitatea zaharozei de la 0,85 pînă la 1,25% și activitatea ascorbinoxidazei. El mai influențează și asupra fermentației. Spre exemplu, cînd conținutul $MnSO_4$ e de 10 g/l, procesul de fermentație încetinește, pe cînd alte cantități de $MnSO_4$ grăbesc fermentația. Astfel cu ajutorul manganului se poate regla procesul de fermentație.

La mărirea cantității de zahăr din bobițe în timpul coacerii influențează și alte microelemente: Zn, Cd, Ni, Co, Cr.

Elementele minerale sînt necesare și pentru nutriția levurilor. În timpul fermentației alcoolice aproximativ 20—30% din conținutul lor trec în masa levurială și sînt mai apoi înlăturate odată cu primul pritoc. De obicei sucul de struguri conține cantitatea de elemente naturale necesară levurilor pentru dezvoltare. Numai în unele cazuri e necesar a adăuga fosfor (în formă de fosfat de amoniu) pentru nutriția adăugătoare a levurilor.

Unele elemente minerale, în special fierul, aluminiul, cuprul pot forma împreună cu părțile componente ale sucurilor și vinurilor compuși insolubili, care provoacă tulburări. Astfel, bunăoară, formarea tanatului și a fosfatului de fier provoacă casarea albă și neagră, iar sulfura de cupru — casarea cuproasă.

Unii cationi (fierul, cuprul, magneziul, zincul etc.) catalizează procesele biochimice, ce au loc în suc și în vin. Ei pot acționa de sine stătător sau în componența complecșilor organici temporari (spre exemplu cu acidul tartric), a fermenților și a vitaminelor. Acidul fosforic este catalizator al fermentației alcoolice.

§ 10. Vitaminele

Vitaminele întrunesc un grup de substanțe foarte diverse după structura chimică, dar cu o proprietate biologică identică — în cantități nu prea mari sînt necesare pentru nutriție în calitate de factor suplimentar. Studierea vitaminelor a început în prima jumătate a secolului nostru. În prezent sînt cunoscute structura, proprietățile și răspîndirea lor în natura vie.

În comparație cu alte pomușoare, fructe și legume (coacăza neagră, fructele citrice, ardeii etc.) strugurii sînt destul de săraci în vitamine, de aceea importanța nutritivă a strugurilor, sucului lor și a vinului din acest punct de vedere este comparativ neînsemnată (tabelul 13). Totodată vitaminele sînt una din componentele structurale a unor enzime și joacă un rol important în procesele preparării și maturării vinurilor. Spre exemplu, creșterea levurilor depinde de acidul pantotenic. Acest acid și biotina acționează asupra fermentației alcoolice.

Tabelul 13.

Vitaminele strugurilor şi ale vinului

Vitamina	Cantitatea		
	la 1 kg de struguri	1 l de must	la 1 l de vin
Acidul p-aminobenzoic, mkg	10—60	10—60	10—60
Vitamina B_1 (tiamina), mkg	200—700	100—600	10—100
Vitamina B_2 (riboflavina), mkg	50—300	20—100	10—400
Vitamina B_6, mg	0,3—1,8	0,2—1,0	0,1—1,6
Vitamina B_{12}, mkg	0,01—0,1	0,01—0,1	0,01—0,3
Biotina (vitamina H), mkg	1,5—2,5	1,5—4,0	1,0—4,0
Vitamina C (acidul ascorbic), mg	15—150	10—100	1—10
Carotina, mkg	100—700	100—600	1—10
Mezoinozitolul, mg	200—700	200—650	100—600
Niocina (vitamina PP), mg	0,3—5,0	0,3—4,0	0,1—1,5
Vitamina P (citrina), mg	10—1000	5—300	10—1000
Acidul pantotenic, mg	0,5—1,5	0,3—1,4	0,2—1,5
Folacina, mkg	1—5	1—5	0,3—3
Holina, mkg	20—40	20—40	15—30

Pe parcursul coacerii strugurilor cantitatea unor vitamine sporeşte (tiamina), a altora se reduce (biotina), iar altele nu suferă schimbări esenţiale (niacina, vitamina B_6). Vitaminele sînt uşor absorbite, în special de bentonită. Vitamina C (acidul ascorbic) joacă un rol important în procesul de oxidare. Ea uşor se oxidează şi de aceea poate fi întrebuinţată ca şi anhidrida sulfuroasă în calitate de antioxidant în vinificaţie.

§ 11. Schimbările componenţei chimice a strugurilor în procesul coacerii

Componenţa chimică a bobiţelor strugurilor nu este constantă, şi schimbările ei depind în primul rînd de gradul de coacere. În perioada de la începutul coacerii pînă la coacerea fiziologică deplină a strugurilor se remarcă tranziţia de la formarea acizilor la acumularea zăharurilor, transformarea substanţelor tanante şi colorante, schimbarea substanţelor azotate, acumularea uleiurilor eterice.

Schimbările componenţei chimice a strugurilor şi schimbările în procesul preparării vinurilor au fost studiate de biochimiştii şi enologii sovietici A. I. Oparin, N. M. Sisakian, A. M. Frolov-Bagreev, N. N. Prostoserdov, M. A. Gherasimov, S. V. Durmişidze, V. I. Nilov, A. C. Rodopulo, N. F. Saenko, P.N. Ungureanu, N. G. Agaboliant, I. A. Egorov, A. D. Laşhi, G. I. Beridze, N. M. Scurihin şi alţii.

În perioada de coacere a strugurilor odată cu schimbarea volumului bobiţei au loc şi schimbări calitative în compoziţia ei chimică.

Chiar la începutul formării bobiţei cantitatea totală a zahărului constituie 1%. Aceasta e în special glucoza. În perioada de ma-

Tabelul 14

Schimbarea indicelui gluco-acidimetric în procesul de coacere a strugurilor de solul Saperavi (după V. N. Nilov şi I. M. Skurihin)

Indicii	Data									
	20.06	21.07	30.07	05.08	10.08	15.08	20.08	31.08	09.09	02.10
Zahăr, g/l	2,1	21,6	96,0	127,0	152,0	218,0	180,0	221,0	237,0	244
Aciditatea generală, g/l	4,8	30,8	21,1	21,0	13,0	12,8	10,3	8,3	7,6	6,7
Indicele gluco-acidimetric	0,4	0,7	4,3	6,0	11,7	16,8	18,6	27,6	31,0	35,8

turizare a bobiţei paralel cu glucoza se acumulează şi fructoza. Raportul $\frac{\text{fructoza}}{\text{glucoza}}$ $\frac{F}{G}$ în această perioadă se apropie de 1 (el poate fi în limitele 0,9—1,3). Cînd strugurii sînt răscopţi, în urma descompunerii fructozei în timpul metabolismului bobiţei, raportul e mai mare ca 1.

Pe măsura coacerii strugurilor aciditatea lor scade, iar zaharitatea creşte. Astfel indicele gluco-acidimetric creşte (tabelul 14). Se socoate că valoarea optimală a indicelui gluco-acidimetric pentru soiurile de masă e 25, de şampanie — 20, de desert — 35. Acumularea acizilor organici se termină pînă la începutul maturizării bobiţei, cînd concentraţia zahărului în ea creşte considerabil.

În prima perioadă de coacere în bobiţe predomină acidul malic. Spre sfîrşitul coacerii predomină acidul tartric, deoarece, cel malic se consumă energic în procesele de respiraţie. În strugurii copţi acidul tartric în stare liberă e foarte puţin, el se află în special în formă de sare acidă de kaliu.

Cantitatea acidului citric la început creşte, apoi se micşorează (tabelul 15).

Au fost efectuate un şir de cercetări asupra schimbărilor polifenolilor în procesul de coacere a strugurilor. La începutul coacerii în bobiţă (în pieliţă şi seminţe) apar (+)— catechina şi (—)— epicatechina. Apoi se formează (—) — galocatechina, care spre sfîrşitul coacerii predomină printre catechine. La sfîrşitul coacerii a fost găsit (—) — epicatechingalatul. Cantitatea generală a catechinelor creşte (S. V. Durmişidze, N. N. Nuţibidze).

Neuniform decurge şi formarea antocianilor. P. Ribero — Gaion a stabilit, că la început se acumulează cianidola, apoi ea suferă metoxilarea şi se transformă în peonidol. Cianidola se epuizează şi

Tabelul 15

Schimbarea cantității acizilor organici și a glucidelor în procesul de coacere al soiului Aligote
(după A. C. Rodopulo)

Data	pH	Aciditatea titrabilă g/l	Tartric	Malic	Citric	Succinic	Oxalic	Piruvic	Monozaharide, g/l	Polizaharide, g/l
			g la 1 kg de struguri							
20.70	2,4	34,8	13,25	13,75	0,225	0,225	0,165	0,215	10,3	0,0
5.08	2,5	23,9	11,20	9,68	0,320	0,180	0,146	0,016	27,9	0,3
20.08	2,8	17,7	8,10	7,02	0,355	0,165	0,123	0,014	63,9	0,7
25.09	3,1	11,0	6,35	4,15	0,400	0,115	0,095	0,015	149,7	8,5
5.10	3,2	6,6	4,05	2,05	0,245	0,095	0,053	0,012	160,3	9,6

în sinteza delfinidolului, care în rezultatul metoxilării se transformă în petunidol și malvidol.

Asupra acumulării antocianilor acționează lumina solară, în special asupra procesului de metoxilare, pe cînd formarea glicozidelor depinde de temperatură și umiditate.

Cantitatea substanțelor azotate în bobițe crește, iar în frunze, ciorchini, semințe — scade. Introducerea în sol a îngrășămintelor de azot contribuie la sporirea cantității azotului în bobițe.

Pe măsura coacerii strugurilor activitatea enzimelor crește. Spre exemplu, peroxidaza la începutul coacerii e activă, apoi activitatea ei scade și crește din nou spre sfîrșitul coacerii. Protopectinaza e foarte activă la sfîrșitul coacerii datorită cărui fapt începe înmuierea bobițelor.

CAPITOLUL 2

PROCESELE DE OXIDOREDUCERE ÎN VINIFICAȚIE

§ 1. Potențialul de oxidoreducere (redox potențialul)

Un rol important în procesele biochimice îi revine transportării electronilor între diferite molecule și ioni cu schimbarea sarcinii lor, care stă la baza transformărilor oxidoreducătoare și la nașterea potențialului redox.

Deoarece cedarea și adiționarea electronilor decurg simultan, procesul transportării electronilor între molecule poartă denumirea de reacții de oxidoreducere.

Orice sistem de oxidoreducere se caracterizează printr-un anumit raport dintre activitatea formei oxidate şi a celei reduse:

$$\frac{\text{oxidarea}}{\text{reducerea}} \text{ sau } \frac{Ox}{Red}$$

Dacă valoarea raportului Ox/Red este mare, atunci sistemul e capabil să funcţioneze ca oxidant sau ca acceptor de electroni şi invers, dacă valoarea Ox/Red e mică, sistemul funcţionează ca reducător sau ca donor de electroni.

Potenţialul care apare pe electrodul unui metal nobil (platină, aur) scufundat în soluţia ce constă din amestec de oxidant şi reducător, spre exemplu Fe^{++} şi Fe^{+++}, se numeşte potenţial de oxidoreducere (OR) sau potenţial redox (se indică Eh).

Dacă potenţialul redox al unei soluţii e mai mare ca potenţialul redox al altei soluţii, atunci prima soluţie va oxida-o pe a doua, iar singură se va reduce. Acest proces va continua pînă cînd în amestecul ambelor soluţii se va stabili un potenţial intermediar.

Mărimea potenţialului de oxidoreducere (Eh) depinde de raportul dintre forma oxidată şi cea redusă a substanţelor şi de numărul electronilor transportaţi. Această dependenţă se exprimă prin ecuaţia lui Nernst:

$$Eh = Eh_0 + \frac{0{,}058}{n} \log \frac{Ox}{Ред},$$

unde Ox — concentraţia formei oxidate;
Red — concentraţia formei reduse;
n — numărul de electroni transferaţi;
Eh — potenţialul normal al sistemei.

Potenţialul OR al majorităţii sistemelor depinde de pH. Odată cu creşterea pH-ului cu o unitate el devine mai negativ cu 58 mV (la temperatura de 18°C).

Pentru a stabili legătura între Eh şi pH-ul sistemului OR Clarc a propus mărimea rH_2, care exprimă presiunea hidrogenului molecular din sistemul rH_2, să se calculeze după formula (la 30°C):

$$rH_2 = Eh + \frac{0{,}06 \, pH}{0{,}03},$$

rH_2 variază între 0 şi 42,6.

Cu cît rH_2 e mai mic, cu atît sistemul posedă o capacitate de reducere mai mare.

Pentru aprecierea capacităţii de reducere a sistemului se poate întrebuinţa indicatorul — soluţia de 2,6-diclorfenolindofenol. Capacitatea de reducere (cR) a sistemului se determină după viteza de decolorare a indicatorului. Dacă culoarea indicatorului dispare timp de 5—10 sec., capacitatea de reducere a sistemului e înaltă, timp de 15—30 sec.— e medie, timp de 30 sec.— e mică.

Fiecare sistem OR posedă o anumită acţiune-tampon, adică o capacitate de rezistenţă la schimbările potenţialului sub influenţa altor sisteme OR. Acţiunea-tampon maximă e în cazul cînd concen-

traţiile formelor oxidate şi reduse sînt egale. Sistemele, în care forma oxidată sau redusă predomină, au o acţiune-tampon joasă, potenţialul lor fiind foarte sensibil la introducerea altor sisteme.

Sistemele OR biologice se deosebesc prin viteza mică a reacţiilor OR. Viteza acestor reacţii e determinată de natura ionilor, gradul de ionizare, pH-ul soluţiei, de acţiunea ionilor străini, şi mai ales de concentraţia componenţilor sistemului OR.

În soluţiile foarte diluate echilibrul se stabileşte atît de încet, încît ecuaţia lui Nernst nu poate fi aplicată. Concentraţia, mai jos de care echilibrul practic nu se stabileşte, se numeşte limitativă. Concentraţia limitativă diferă pentru diverse sisteme OR, dar în mediu alcătuieşte $10^{-4} \div 10^{-5} \frac{g-ion}{e}$. Spre exemplu, pentru sistemul $Fe^{2+} \rightleftarrows Fe^{3+}$ concentraţia limitativă a fiecărui ion e de 5,6 mg/l sau 11,1 mg de fier la 1 l.

N. I. Nekrasov a stabilit că în sistemul biologic neechilibrat valoarea potenţialului OR arată nu numai concentraţia componenţilor sistemului OR, ci şi viteza reacţiilor OR, deoarece viteza reacţiilor OR depinde de concentraţia enzimelor, care catalizează separarea hidrogenului sau oxidarea cu oxigen, şi de concentraţia oxigenului şi substanţelor capabile de a ceda hidrogenul.

Pentru determinarea potenţialului OR al sistemelor biologice el a propus ecuaţia:

$$Eh = \frac{RT}{F} \ln [H^{+}] + \frac{RT}{F} \ln \frac{K_1 [O_2]}{K_2 [Red]} + Eh_0,$$

unde H^+ — concentraţia ionilor de hidrogen;
K_1 — constanta vitezei oxidării formei reduse;
K_2 — constanta vitezei oxidării hidrogenului cu oxigen la suprafaţa electrodului;
O_2 — concentraţia oxigenului în soluţie;
Eh_0 — potenţialul normal al sistemului.

§ 2. Sistemele de oxidoreducere a mustului şi vinului

Despre sistemele OR ale mustului şi vinului se ştie puţin. Unele din aceste sisteme sînt oglindite în tabelul 17 (după Z. N. Kişcovski şi I. M. Skurihin). Care anume din aceste sisteme determină potenţialul OR al mustului şi vinului pînă în prezent n-a fost stabilit. G. Ribero-Gaion şi S. V. Durmişidze consideră că rolul hotărîtor în stabilirea potenţialului OR îl joacă compuşii fenolici — catechinele şi antocianii. Pentru must şi vinul tînăr aceasta s-a adeverit, pentru vinurile maturate însă cantitatea lor e foarte mică.

Acelaşi lucru se referă la conţinutul metalelor grele (cuprul şi fierul), care e mai mică de concentraţia limitativă. Astfel, se presupune că potenţialul OR al vinului e determinat de raportul dintre concentraţia oxigenului şi concentraţia reducătorilor:

$$Eh = f \frac{[O_2]}{[Red]}.$$

Din această ecuaţie reiese că atunci cînd [Red] =const odată cu mărirea concentraţiei oxigenului mărimea Eh creşte şi, invers, odată cu introducerea reducătorilor, spre exemplu SO_2, mărimea potenţialului OR se va micşora.

Viteza de consumare a oxigenului depinde de vîrsta vinului. In vinurile tinere, unde viteza de consumare a oxigenului e mare, potenţialul OR repede îşi reia valoarea precedentă. Iar în vinurile bătrîne, ce conţin puţine substanţe capabile să se oxideze odată cu aerarea, potenţialul OR rămîne la un nivel înalt timp îndelungat.

§ 3. Rolul potenţialului de oxidoreducere în vinificaţie

Măsurînd valoarea potenţialului OR, pot fi controlate procesele OR, care decurg în vin.

P. V. Cocerga consideră că substanţele ce determină buchetul şi gustul vinului se formează şi se păstrează la un potenţial OR redus, la care are loc maturarea diferitelor vinuri.

Schimbînd potenţialul OR al vinului prin adaugarea ionilor metalelor grele, el a observat apariţia nuanţelor de portvein, maderă, heres. Aceste cercetări au arătat că calitatea vinului depinde de tehnologia preparării lui.

Şanderli a arătat totodată legătura între tipul vinului şi valoarea potenţialului OR. El consideră că nivelul optimal al potenţialului depinde de tipul vinului şi admite aprecierea caracterului proceselor

Tabelul 16

Sistemele de oxidoreducere ale mustului şi vinului

Sistemele de oxidoreducere	Eh_0, mV, cînd pH-ul este			rH_2
	0,0	3,0	7,0	
Aldehida acetică /acidul acetic	—	—	—468	—
Etanol /aldehida acetică	—	—	—200	—
Acidul lactic /acidul piruvic	—	—	—180	—
Cisteina /cistina	—	—	—140	—
Acidul malic /acidul oxalil-acetic	—	—	—102	—
Glutationul redus /glutationul oxidat	—	—	40	—
Cu^{1+} / Cu^{2+}	—	170	—	—
SO_3^{2-} / SO_4^{2-}	—	200	—	—
Acidul ascorbic /acidul dehidroascorbic	—	210	—	13
Antocianii reduşi ai strugurilor /antocianii oxidaţi	—	270	—	15
Acidul tartric /acidul dihidrofumaric.	—	220	—	16
Catechinele reduse ale strugurilor/ catechinele oxidate	—	430	—	21
Acidul dihirdofumaric /acidul dicetosuccinic	—	—	300	—
Fe^{2+} / Fe^{3+}	770	—	—	—
Peroxidul de oxigen / oxigenul	680	—	—	—

care decurg în timpul maturării lui. Lui îi aparţin datele:

Vinul	Eh, mV
De masă (în butoaie)	360—410
De masă îmbuteliate în sticle	150—250
De şampanie	200—350
Tare şi de desert	380—500

Mărimea potenţialului OR al vinurilor tinere e mai înaltă decît a celor maturate. Atît Şanderli, cît şi alţi savanţi sînt de părerea că vinurile cu un potenţial OR redus sînt de o calitate mai înaltă. Studiind conexiunea între mărimea potenţialului OR şi calităţile organoleptice ale vinului, el a tras concluzia că potenţialul OR acţionează nu numai asupra stabilităţii vinului, ci şi asupra gustului şi buchetului.

Mărimea potenţialului OR are o importanţă deosebită la prepararea vinurilor de şampanie şi de masă. Vinurile seci şi de şampanie nu au nevoie de oxigenul din aer, de aceea ele trebuie păstrate în condiţii anaerobe, iar procedeele tehnologice trebuie petrecute în lipsa oxigenului pentru a păstra gustul caracteristic soiului de struguri.

Pentru maturarea maderei, heresului şi a altor vinuri oxidate, din contra, e nevoie de o cantitate mare de oxigen, deoarece ele au un potenţial OR înalt.

Deci, prin reglarea potenţialului OR în timpul procedeelor tehnologice pot fi căpătate vinuri cu calităţi organoleptice dorite.

CAPITOLUL 3

PROCESELE BIOCHIMICE CE AU LOC ÎN TIMPUL PRELUCRĂRII STRUGURILOR ŞI FERMENTAŢIEI BOŞTINEI

§ 1. Procesele biochimice ce decurg în must şi boştină pînă la fermentaţia alcoolică

Perioada de la prelucrarea strugurilor pînă la începerea fermentaţiei alcoolice a mustului şi a boştinei este legată de un şir de procese biochimice.

Distrugerea celulelor strugurilor înlesneşte transformările componenţilor mustului datorită intensificării activităţii fermentative. Caracterul acestor transformări depinde de activitatea enzimelor de oxidare, de prezenţa catalizatorilor neorganici, de temperatură, de accesul aerului şi de alţi factori.

Dintre enzimele de oxidare în această perioadă cea mai mare însemnătate o au catecoloxidaza şi peroxidaza. In prezenţa catecoloxidazei decurge oxidarea polifenolilor, care e însoţită de absorbţia de oxigen şi de formarea unor substanţe colorante.

In urma oxidării polifenolilor se formează chinone, care dehidratează substanţele mustului uşor oxidabile.

Procesele secundare de oxidare contribuie la oxidarea acizilor

Tabelul 17

Schimbarea cantității substanțelor tanante și a acidului ascorbic în sucul de struguri sub influența polifenoloxidazei

(struguri de soiul Cinuri)

Momentul aprecierii	Cantitatea generală a substanțelor tanante, ml 0,1 n $KMnO_4$ la 50 ml de must	Chinone	Acid ascorbic	Oxigen dizolvat	Eh, mV	pH	Culoarea sucului
		mg/l de must					
In momentul presării	5,9	0,0	10,5	Urme	320,5	3,1	Verzuie
Peste o oră	5,4	Urme	1,3	3,25	389,6	3,1	Galbenă ca paiul
Peste 6 ore	4,2	1,5	0,3	6,32	435,6	3,1	Brună
Peste 12 ore	3,6	2,5	Urme	7,27	475,3	3,0	Brună intensivă

ascorbic și dihidroxifumaric, aminoacizilor și hidroxiacizilor prin intermediul dehidratării lor cu chinone.

In urma păstrării mustului în condiții aerobe timp de 12 ore el capătă culoare brună intensivă din cauza oxidării polifenolilor. Oxidarea polifenolilor poate fi prevenită în urma adăugării acidului ascorbic, care se oxidează ușor în acid dehidroascorbic și joacă rolul de antioxidant (tabelul 17).

Viteza de absorbție a oxigenului în mustul aerat e de 2—3 ml/l pe oră.

Boștina, în comparație cu mustul, absoarbe mult mai mult oxigen. Aceasta se explică prin faptul că componentele dure ale bobiței sînt purtătoare a enzimelor de oxidare mai active față de cele din must.

Viteza de oxidare a diferiților polifenoli e diversă. Spre exemplu, antocianii și antocianidele în comparație cu catechinele se oxidează mai puțin.

Intensitatea oxidării compușilor fenolici depinde de temperatură. Mărind temperatura cu 10°C, oxidarea fermentativă sporește mai mult de 2 ori.

In afară de enzimele de oxidare strugurii mai conțin și enzime hidrolitice. Acestea-s enzimele pectolitice și proteolitice, β — fructofuranozidaza, esterazele etc.

Enzimele pectolitice catalizează hidroliza substanțelor pectice. Acestea sînt protopectinaza, pectinmetilesteraza și poligalacturonaza. Protopectinaza scindează arabanul și galactanul de la protopectină, formînd acidul poligalacturonic metoxilat (pectina solubilă). Sub influența pectinmetilesterazei are loc scindarea alcoolului metilic de la acidul poligalacturonic metoxilat. Apoi poligalacturonaza provoacă hidroliza acidului poligalacturonic pînă la acid *d*-galacturonic. Din cauza ei enzimele pectilotice din must sînt puțin active, de aceea în ultimul timp se folosesc preparate fermentative,

produse de ciuperci. Intrebuinţarea lor are un şir de privilegii:
cantitatea mustului se măreşte cu 5—6%;
se accelerează limpezirea mustului;
se îmbunătăţeşte filtrarea vinului.

Enzimele proteolitice catalizează hidroliza proteinelor şi polipeptidelor pînă la aminoacizi. Acest proces are o importanţă deosebită în vinificaţie, deoarece vinurile care conţin proteine sînt predispuse la tulburări. Scindarea proteinelor pînă la aminoacizi solubili preîntîmpină tulburarea.

§ 2. Prelucrarea fermentativă a boştinei

Prelucrarea fermentativă a boştinei înainte de presare se foloseşte pe larg în vinificaţie, deoarece are un şir de privilegii:
preparatele fermentative înlesnesc presarea boştinei;
măresc cantitatea mustului;
accelerează limpezirea mustului;
reduc gradul predispunerii la tulburările coloidale.

In urma introducerii preparatului fermentativ purificat în boştină are loc hidroliza mai rapidă a proteinelor, a pectinei strugurilor şi a altor polizaharide, ceea ce măreşte cantitatea mustului răvac cu 10—20% şi viteza de filtrare a mustului. Calităţile organoleptice ale sucului şi vinurilor nu se înrăutăţesc.

Preparatele fermentative se folosesc în doze de la 0,0005 pînă la 0,03% faţă de masa strugurilor, boştinei sau mustului (în dependenţă de activitatea preparatului).

Prelucrarea fermentativă a boştinei (puţin sulfitată în scopul prevenirii oxidării fenolilor) soiurilor roşii timp de 4 ore la temperatura de 45—50°C dă posibilitatea de a căpăta vinuri roşii calitative fără procedeul de fermentare pe boştină.

După prelucrarea mustului cu preparate pectolitice sporeşte cantitatea alcoolului metilic, de aceea acest procedeu e inaplicabil în producerea vinurilor brute pentru fabricarea coniacului.

Preparatele fermentative citolitice scindează celuloza, hemiceluloza etc., contribuind la sporirea cantităţii mustului.

§ 3. Procesele de oxidoreducere la prelucrarea fermentativă a mustului şi mijloacele reglării lor

Procesele de oxidoreducere, care decurg în must şi boştină, determină direcţia şi caracterul transformărilor substanţelor viitorului vin. Viteza acestor procese atît din vin cît şi din must depinde de prezenţa catalizatorilor biologici.

Procesele de oxidare, care au loc în must, depind de gradul de distrugere al pulpei, pieliţei, ciorchinilor. In condiţii obişnuite pul-

pa se distruge mai uşor ca pieliţa şi ciorchinii. Substanţele tanante şi cele colorante trec în must şi sînt oxidate de enzimele, absorbite din pulpă şi pieliţă. Astfel procesele de oxidare în timpul fermentării mustului şi boştinei depind de gradul de distrugere a ciorchinilor şi de înnobilarea mustului cu enzime de oxidare.

La prepararea vinurilor roşii în unele cazuri boştina constă din struguri striviţi, inclusiv ciorchini, pieliţă şi seminţe, în altele — ciorchinii sînt înlăturaţi parţial sau complet. În timpul macerației are loc înnobilarea mustului cu substanţe tanante şi colorante. Pulpa şi pieliţa conţin cele mai active enzime de oxidare. Datorită acestui fapt se intensifică procesele de oxidare — se oxidează compuşii fenolici, acizii ascorbinic şi organici în urma acţiunii fermenţilor catecoloxidaza, peroxidaza, ascorbatoxidaza, dehidrogenaza etc.

La prepararea vinurilor de Kahetia pentru intensificarea proceselor de oxidare în must înainte de fermentaţie se adaugă boştină prelucrată fermentativ. În urma proceselor de oxidare substanţele tanante şi colorante se transformă în chinone.

În timpul oxidării fermentative a boştinei are loc înnobilarea mustului cu compuşi micromoleculari şi cu compuşi macromoleculari condensaţi, căpătaţi în urma oxidării compuşilor fenolici. Simultan boştina îşi schimbă culoarea.

În timpul preparării vinurilor roşii boştina se sulfitează pentru inhibarea enzimelor de oxidare şi prevenirea proceselor de oxidare intensă nedorite. La început sub influenţa SO_2 culoarea devine pală, apoi, după ce începe fermentaţia alcoolică şi anhidrida sulfuroasă este fixată de aldehide, se restabileşte. Dioxidul de carbon, ce se degajă în timpul fermentaţiei, inhibează enzimele de oxidare şi împiedică apariţia nuanţei brune-gălbui a culorii. Pentru a preveni procesele de oxidare în unele cazuri boştina se încălzeşte pînă la 70°C. Ca urmare are loc extragerea intensivă a substanţelor tanante şi colorante.

În timpul contactului cu boştina şi fermentaţiei pe boştină au loc şi procese de autoliză a celulelor vegetale şi levuriale moarte, care duc la înnobilarea mustului cu substanţe azotate şi cu alte substanţe.

În producerea vinurilor de masă şi de şampanie e necesară separarea rapidă a mustului de boştină în scopul prevenirii înnobilării lui cu substanţe tanante, colorante şi azotate şi cu fermenţi de oxidare. Pentru producerea acestor vinuri se foloseşte mustul răvac şi mustul căpătat în urma primei presiuni de presare.

Activitatea catecoloxidazei în mustul diferitelor fracţii de presare treptat sporeşte. Acelaşi lucru se petrece şi cu peroxidaza. Aceasta se explică prin faptul că în urma fărîmiţării strugurilor şi a presării lor în must nimeresc particule în suspensie — celule ale pulpei, purtătoare de enzime.

Activitatea enzimelor de oxidare depinde de concentraţia ionilor de hidrogen din soluţie (pH). Acţiunea optimă a catecoloxidazei are loc la pH-ul 5,3—6,8. Culesul strugurilor pentru vinurile de şampanie se efectuează la pH-ul 2,7—3,2, ceea ce contribuie la reducerea

activității enzimelor de oxidare. Aceasta permite căpătarea vinurilor puțin oxidate.

Trecerea de la o fracție la alta contribuie și la sporirea cantității substanțelor tanante, colorante și azotate.

Conținutul redus de substanțe tanante și oxidaze, aciditatea înaltă protejază vinul de supraoxidare, care e condiționată de oxidarea substanțelor tanante, iar conținutul redus de azot împiedică dezvoltarea bacteriilor lactice.

În fracțiile presiunii II și III cantitatea substanțelor tanante și a enzimelor de oxidare e mărită, și procesele de oxidare se intensifică datorită adiției oxigenului. Oxidarea polifenolilor duce la formarea chinonelor care provoacă schimbări chimice considerabile în must. Ele oxidează substanțele ușor oxidabile — acizii ascorbic și dihidroxifumaric, hidroxiacizii, aminoacizii și alți compuși, fapt ce duce la înrăutățirea calității mustului. După consumarea acizilor ascorbic și dihidroxifumaric începe condensarea chinonilor, produsele căreia colorează mustul în brun-cenușiu (procese de oxidare secundare). Prin urmare, pentru preparaea vinurilor de masă puțin oxidate și a celor de șampanie e necesară prelucrarea rapidă a strugurilor și separarea imediată a mustului de boștină. Fracția I se pompează în rezervoare separate și se adaugă cantități mici de anhidridă sulfuroasă (40—50 mg/l) pentru inhibarea enzimelor de oxidare.

Mustul presat se sedimentează timp de 24 de ore pentru înlăturarea părticelelor în suspensie, a prafului și microorganismelor. În această perioadă sulfitarea puternică e inadmisibilă. Conform datelor unor autori (Pauli), doza de SO_2 nu trebuie să depășească 100 mg/l.

Folosirea temperaturilor joase permite de a micșora doza de sulfitare. Procesele de limpezire sînt accelerate cu ajutorul bentonitei, care formează un sediment ce se depune repede. Însă cantitățile mari de bentonită duc la reducerea enzimelor și vitaminelor din must, care sînt absorbite de bentonită.

Rezultate bune pot fi căpătate în urma limpezirii mustului prin centrifugare. În acest caz mustul se sulfitează numai pentru a inactiva fermenții de oxidare.

CAPITOLUL 4

BIOCHIMIA FERMENTAȚIEI ALCOOLICE

Fermentația alcoolică este un proces biochimic complex foarte important, în urma căruia zahărul din must se transformă în alcool etilic (spirt), dioxid de carbon și un șir de substanțe secundare, care formează buchetul și gustul vinului.

§ 1. Sistemele fermentative ale levurilor

Procesul de descompunere a zahărului este complicat și e catalizat de enzime.

Pentru prima dată în anul 1860 Bertlo a reușit să elimine din le-

vuri enzima invertaza, care catalizează hidroliza zaharozei.

Descoperirea zimazei levurilor a avut o importanță colosală atît în studierea enzimelor, cît și în descifrarea chimismului fermentației alcoolice.

Eliminarea zimazei a servit ca dovadă că fermentația poate decurge și în lipsa celulelor vii.

La început zimaza era considerată enzimă omogenă. Această eroare însă a fost combătută. Zimaza s-a dovedit a fi un complex de enzime, ce provoacă descompunerea anaerobă a glucidelor; unele din enzimele zimazei s-au dovedit a fi compuse din două componente (dehidrogenaza, carboxilaza). Mai tîrziu a fost stabilit că în zimază intră și enzimele care participă la procesele de oxidoreducere, și enzimele ce transportă rămășițele acidului fosforic — cele ce produc decarboxilarea etc.

Odată cu zimaza a fost descoperită și o altă substanță, numită coenzimă sau cozimază. S-a dovedit că zimaza în lipsa coenzimei nu poate provoca fermentația alcoolică.

Cozimaza este o coenzimă (grup activ) a dehidrogenazelor, și anume difosfopiridinnucleotidă — DPN (conform nomenclaturii chimice moderne e numită nicotinamidadeninnucleotidă — NAD).

Pentru descompunerea zahăruluui în spirt și CO_2 e nevoie și de fosfat. El se formează în procesul fermentației din fosforul ce îl conține celula levurială, astfel se formează hexozofosfatele.

În anul 1927 în celula levurilor a fost descoperită și hezochinaza care joacă un rol deosebit în descompunerea anaerobă a glucidelor.

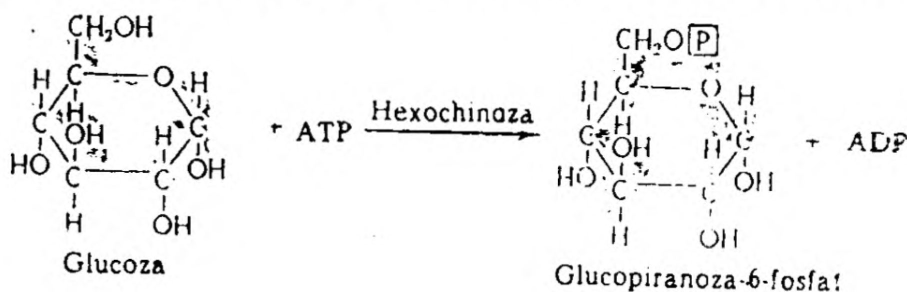
În levuri au fost găsite citocrome și alți catalizatori de oxidoreducere, determinîndu-se rolul lor important în procesul de transmisie a electronilor.

În toate aceste procese rolul hotărîtor îl joacă mitocondriile levurilor — centre de conservare a energiei substanțelor nutritive.

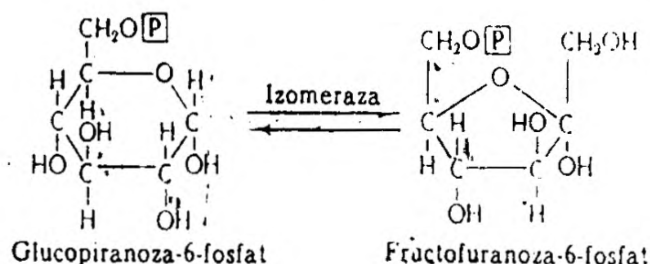
§ 2. Mecanismul fermentației alcoolice

Conform teoriei contemporane, prima fază a fermentației alcoolice constă în formarea esterilor fosforilați ai hexozelor.

Sub influența enzimei hexochinaza are loc transformarea unui rest fosforic de la adenozintrifostat (ATP) pe molecula glucozei, formîndu-se glucopiranoza-6 — fosfat și adenozindifosfat (ADP):

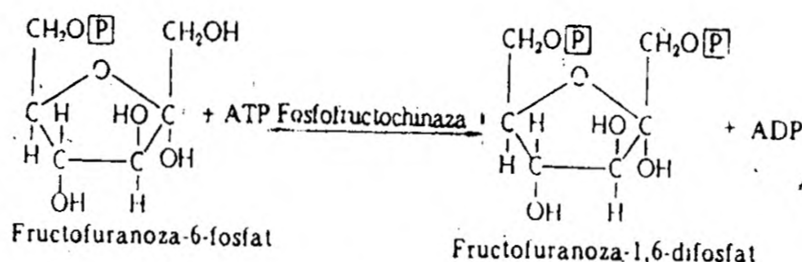


Esterul glucopiranoza-6—fosfat este izomerizat sub acţiunea glucozofosfoizomerazei (hidroxoizomerază) la ester fructofuranoza-6—fosfat:



Glucopiranoza-6-fosfat Fructofuranoza-6-fosfat

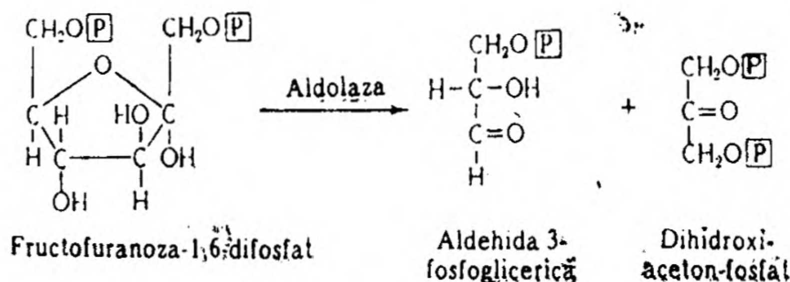
Sub influenţa fosfofructochinazei o moleculă de ATP transferă încă un rest fosforic pe molecula de fructofuranoză-6-fosfat şi se formează fructofuranoza-1,6-difosfat; este necesară prezenţa catalitică a ionilor Mg^{++}:



Fructofuranoza-6-fosfat Fructofuranoza-1,6-difosfat

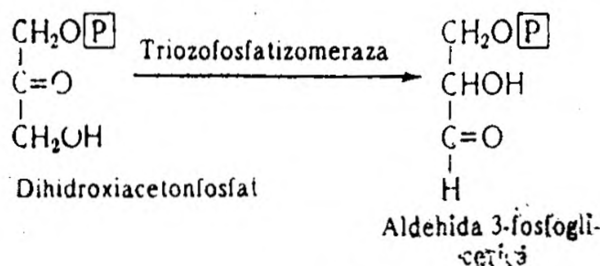
Ca rezultat al acestor reacţii molecula de zahăr trece în formă de hidroxi, devenind mai labilă. Datorită amplasării simetrice a resturilor fosforice la capetele moleculei ea scindează la mijloc.

Mai departe fructofuranoza-1,6-difosfatul este scindat în două fosfotrioze: aldehida-3-fosfoglicerică şi dihidroxiaceton — fosfatul în prezenţa aldolazei:



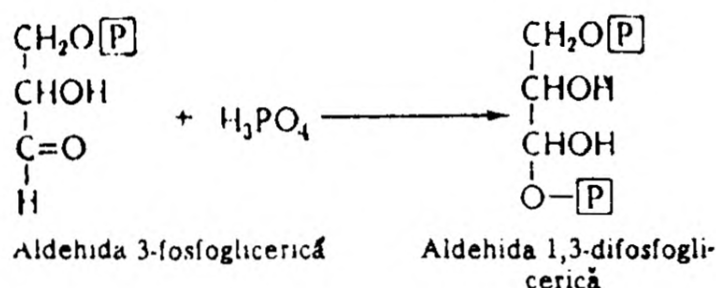
Fructofuranoza-1,6-difosfat Aldehida 3-fosfoglicerică Dihidroxiaceton-fosfat

Sub influenţa izomerazei fosfotrioza dihidroxiacetonfosfatul trece în aldehida 3—fosfoglicerică:



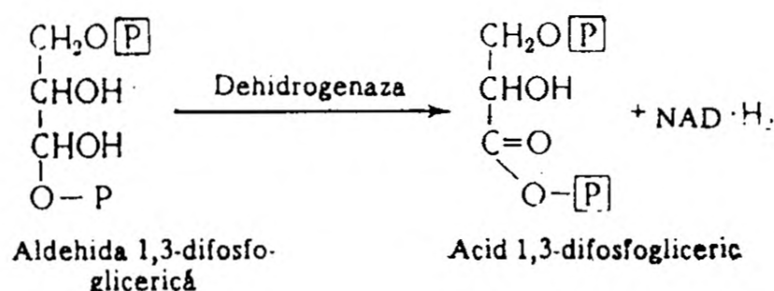
Dihidroxiacetonfosfat Aldehida 3-fosfoglicerică

Aldehida 3—fosfoglicerică cuplează un rest fosforic (cu participarea fosforului inorganic) şi se transformă în aldehidă 1,3—difosfoglicerică:



Aldehida 3-fosfoglicerică Aldehida 1,3-difosfoglicerică

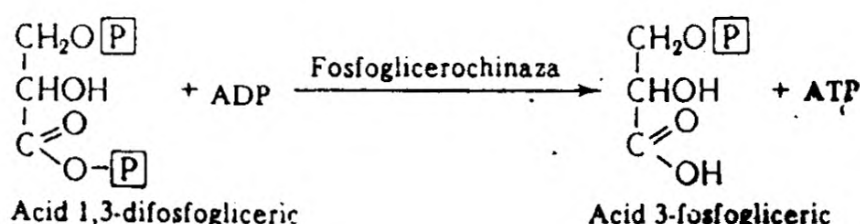
Sub influenţa triozofosfatdehidrogenazei în prezenţa coenzimei NAD, care e transmiţătoare de hidrogen, aldehida 1,3—difosfoglicerică se oxidează în acid 1,3—difosfogliceric:



Aldehida 1,3-difosfoglicerică Acid 1,3-difosfogliceric

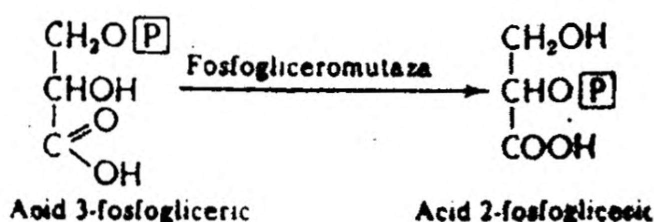
Aici NAD e acceptor temporar de hidrogen.

În continuare acidul 1,3-difosfogliceric cedă unei molecule de ADP un rest fosforic, formînd acidul 3-fosfogliceric şi ATP. Procesul e catalizat de către fosfoglicerochinaza:



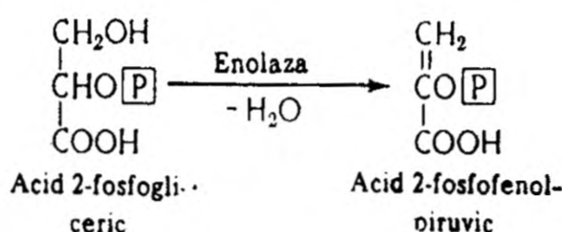
Acid 1,3-difosfogliceric Acid 3-fosfogliceric

Acidul 3-fosfogliceric se izomerizează sub influenţa fosfogliceromutazei, trecînd în acid 2-fosfogliceric:

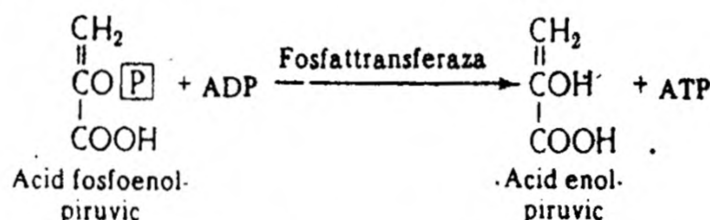


Acid 3-fosfogliceric Acid 2-fosfogliceric

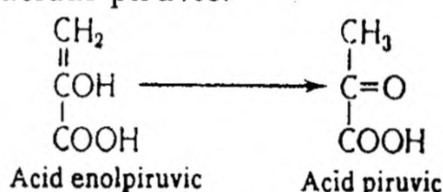
Acidul 2-fosfogliceric sub acţiunea enolazei pierde o moleculă de apă şi se transformă în acid fosfoenolpiruvic:



Acidul 2-fosfoenolpiruvic cedează restul fosforic prin intermediul enzimei fosfattransferaza unei molecule de ADP cu formarea acidului enolpiruvic şi ATP:



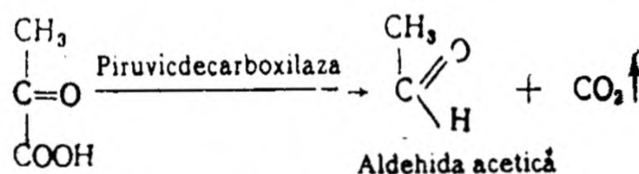
Acidul enolpiruvic eliberat trece apoi spontan în forma sa cetonică mai stabilă — acidul piruvic:



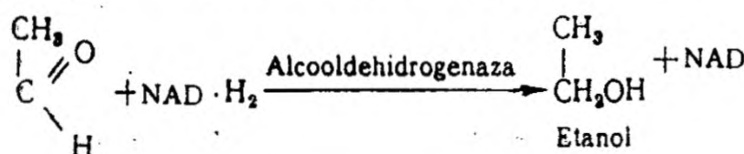
Transformările de mai sus au loc în toate cazurile de descompunere anaerobă a glucidelor.

Transformările ulterioare depind de prezenţa enzimei piruvicdecarboxilaza, care poate duce la formarea alcoolului etilic sau acidul lactic (în urma fermentaţiei lactice) sau la oxidarea deplină cu formarea CO_2 şi H_2O (în urma respiraţiei aerobe).

În timpul fermentaţiei alcoolice are loc decarboxilarea acidului piruvic cu formarea aldehidei acetice şi al primului produs principal al acestui proces, dioxidul de carbon, care începe să se degaje:



Mai departe aldehida acetică se reduce la formarea alcoolului etilic prin intermediul enzimei reduse NAD · H_2, care serveşte ca donor de hidrogen, şi a enzimei alcooldehidrogenaza:



Aldehidacetic

§ 3. Produsele secundare ale fermentației alcoolice

In urma fermentației alcoolice paralel cu produsele de bază, spirtul și dioxidul de carbon, se mai formează și produse secundare, care acționează asupra buchetului și gustului vinului. Acestea sînt glicerina (g), aldehida acetică (a), acidul acetic (ac), acizii succinic (s) și citric (c), acetoina (at), 2,3-butilenglicolul (b), acidul lactic (l), acidul piruvic (p), alcoolii izoamilic (i) și izopropilic (pr), esteri.

V. Z. Gvaladze și L. Genevua au dedus ecuația care exprimă interacțiunea dintre unele produse secundare ale fermentației alcoolice:

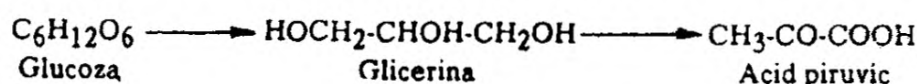
$$g = p + a + 2ac + 5s + 2at + b + 9c + 3i + 3\,pr.$$

Ținînd cont de componenții de bază, ecuația poate fi redusă:

$$g = p + a + 2ac + 5s + b + 2\,at + 9\,c.$$

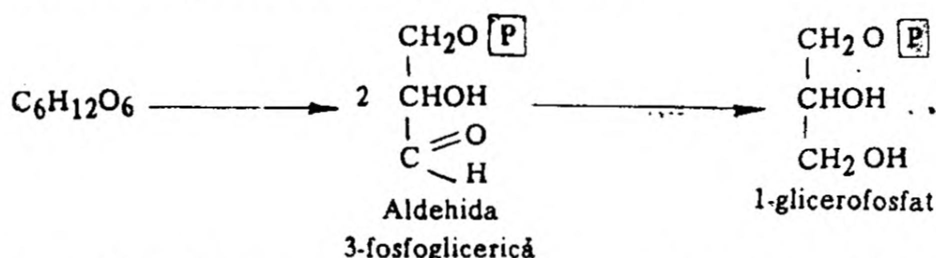
Suma tuturor produselor secundare alcătuiește 80—92% față de cantitatea glicerinei.

Glicerina. Cantitatea ei în vin atinge 5,25—10,6 g/l. Cea mai mare parte se formează la începutul fermentației. La început ea se formează în procesul fermentației gliceropiruvice:



Cantitatea ei depinde de particularitățile de rasă ale levurilor și de tehnologia preparării vinului. Spre exemplu, sporind concentrația de zahăr în mediul de fierbere, se mărește și cantitatea glicerinei.

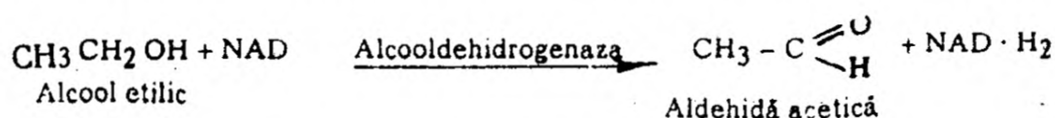
Glicerina se poate forma și pe altă cale:



1 — glicerofosfatul se defosforilează cu ajutorul fosfatazei și se transformă în glicerină.

La începutul fermentației, cînd cantitatea de aldehidă acetică e mică, glicerina se formează în cantități mari. In această perioadă din cele 6—7% de zahăr fermentate 2,5% sînt consumate pentru producerea glicerinei.

Aldehida acetică. Se formează din zahăr pe parcursul normal al fermentației alcoolice. Ea se mai poate forma și în urma oxidării alcoolului etilic în prezența NAD și a enzimei alcooldehidrogenaza:

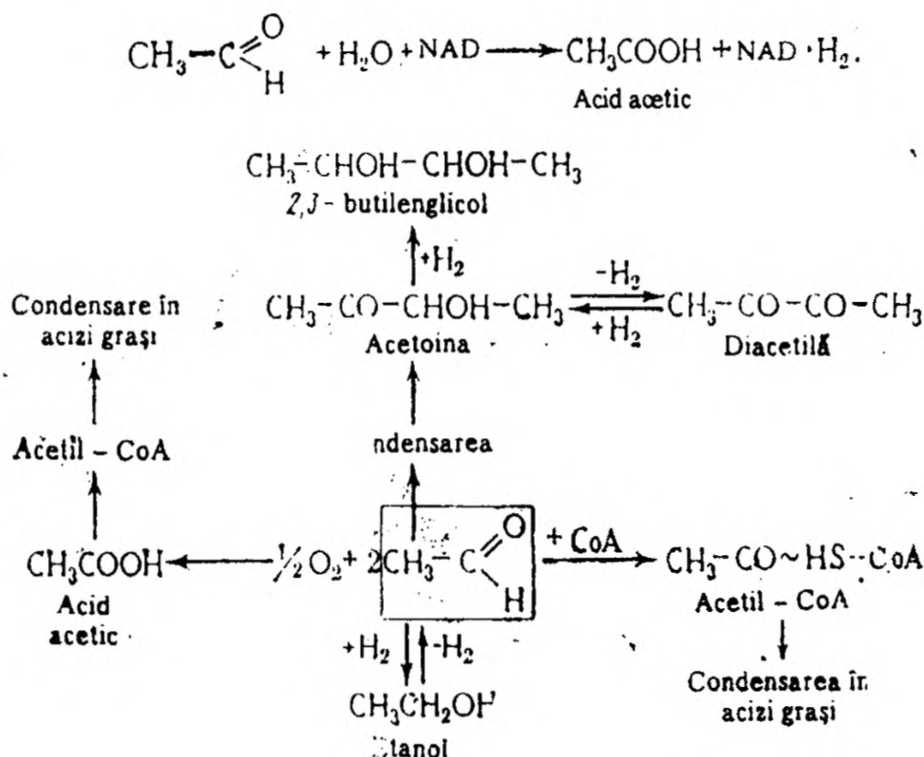


Aldehida acetică se mai formează şi în urma dezaminării aminoacizilor.

Aldehida acetică formată suferă un şir de transformări (schema 4).

Cantitatea aldehidei creşte repede în prima perioadă a fermentaţiei (pînă la 100—150 mg/l), ulterior se stabileşte un echilibru între formarea şi consumarea ei.

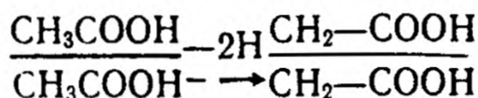
Acidul acetic. Formarea acidului acetic are loc în urma oxdării aldehidei acetice (schema 4) cu ajutorul oxigenului apei:



Schema 5. Transformările aldehidei acetice.

Acidul acetic se formează mai intensiv la începutul fermentaţiei. Aceasta se explică prin faptul că levurile tinere formează mai mult acid acetic decît cele bătrîne.

Acidul citric. Acidul citric se formează în urma condensării a două molecule de acid acetic (reacţia lui Tunberg).

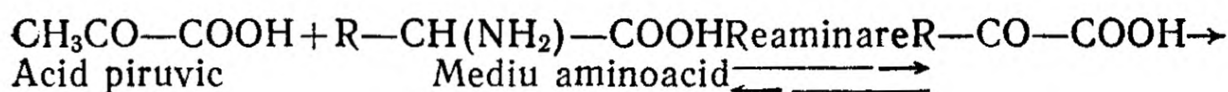


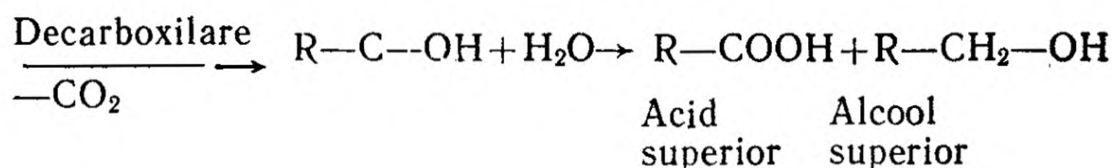
Formarea acidului citric e strîns legată şi de ciclul lui Krebs, deoarece el se capătă din acid succinic în urma unui şir de transformări conform acestui ciclu.

Alcoolii superiori. Se produc prin sinteză de către levuri în procesul fermentaţiei. In componenţa lor intră aproximativ 50 de alcooli superiori. Ei formează 90—95% a uleiului de fuzel. Cei mai

principali reprezentanţi sînt alcoolii izoamilic, izobutilic şi n-propilic, care alcătuiesc 85—93%.

Sinteza alcoolilor superiori decurge în felul următor:





Asupra corelaţiei dintre produsele secundare ale fermentaţiei influenţează aerarea, pH-ul mediului, temperatura fermentaţiei, compoziţia iniţială a mustului. Formarea acidului succinic se intensifică odată cu aerarea mustului şi se micşorează în condiţii anaerobe. Formarea acidului acetic, 2,3-butilenglicolului şi acetoinei se intensifică în condiţii anaerobe şi se micşorează odată cu aerarea mustului.

La pH-ul 3,0 creşte intensitatea fermentaţiei gliceropiruvice, ceea ce duce la micşorarea cantităţii alcoolului etilic. Odată cu creşterea pH-ului formarea glicerinei, acizilor acetic şi succinic se intensifică. Însă acid succinic se formează mai puţin decît acetic.

La pH-ul 6,0 acid acetic se formează în cantităţi mari numai la începutul fermentaţiei. La pH-ul 7,5 (în mediu bazic) acidul acetic se formează cu aceeaşi intensitate în diferite etape ale fermentaţiei. Sporirea pH-ului în condiţii aerobe duce la micşorarea cantităţii acetoinei şi 2,3-butilenglicolului.

Asupra cantităţii finale a produselor influenţează şi rasa levurilor. Conform datelor lui Genevua, levurile producătoare de acid succinic, la temperaturi joase (7°C), provoacă acumularea acidului acetic (de 2—3 ori mai mare ca de obicei). Aceasta se explică prin frînarea condensării acidului acetic în succinic la începutul fermentaţiei. La temperatura de 20°C acumularea acidului succinic decurge normal. La temperaturi înalte (30—35°C) predomină fermentarea gliceroperuvică cu formarea glicerinei. În acest caz cantitatea acidului succinic se micşorează, iar cantitatea aldehidei acetice, acetoinei şi 2,3-butilen-glicolului creşte.

La temperatura de 15—20°C se formează o cantitate foarte mică de acizi volatili, iar scăderea temperaturii pînă la 5°C şi mărirea ei pînă la 35°C duce la majorarea cantităţii de acizi volatili din mediul în fierbere.

Conform datelor lui A. Peino, în condiţii anaerobe predomină acizii volatili, iar în cele aerobe — aldehida acetică.

Asupra formării produselor secundare acţionează şi componenţa mustului. Cu cît zaharitatea e mai mare, cu atît cantitatea acidului acetic, aldehidei acetice, glicerinei şi 2,3-butilenglicolului e mai mare.

Asupra componenţei finale a vinului influenţează şi conţinutul vitaminelor din must. Lipsa acidului pantotenic duce la intensificarea fermentării gliceropiruvice şi la formarea glicerinei, acidului acetic şi 2,3-butilenglicolului în cantităţi mari. Lipsa mezoinozitei sau a biotinei reduce formarea glicerinei şi a acidului succinic. În lipsa tiaminei scade cantitatea acetoinei şi 2,3-butilenglicolului.

Conţinutul aminoacizilor în must de asemenea influenţează asupra corelaţiei produselor secundare. Spre exemplu, valina, arginina şi cisteina contribuie la formarea acidului acetic; arginina — la formarea aldehidei acetice şi a 2,3-butilenglicolului, cisteina — la formarea acidului succinic. În urma introducerii azotului amoniacal în must sporeşte cantitatea de acid acetic şi de 2,3-butilenglicol.

Experienţele efectuate de S. V. Durmişidze cu ajutorul carbonului radioactiv ^{14}C au arătat că levurile de vin au proprietatea de a utiliza produsele secundare ale fermentaţiei. S-a dovedit că cel mai intensiv ele utilizează acidul acetic, aldehida acetică şi alcoolul etilic, mai puţin energic — acidul lactic, dioxidul de carbon şi acidul succinic şi cel mai puţin — glicerina. Astfel din acidul acetic şi aldehida acetică se formează alcool etilic, acizii succinic, fumaric şi glicolic, 2,3-butilenglicol şi glicerină, iar acizii lactic şi malic nu se formează.

Conform datelor lui S. V. Durmişidze, unele produse secundare (aldehida acetică, acizii acetic şi succinic, alcoolul etilic) se pot transforma parţial în trehaloza levurilor care, la rîndul său, este supusă transformărilor endogene (în celulă). În timpul înmulţirii şi creşterii levurilor aldehida acetică, alcoolul etilic, acizii acetic şi succinic se transformă în aminoacizi, iar mai apoi în proteine. Aceasta demonstrează încă odată rolul important al produselor secundare în metabolismul celulelor levuriale.

Corelaţia optimă a produselor secundare din vin poate fi reglată prin intermediul alegerii corecte a rasei de levuri, prin reglarea aerării, temperaturii şi a altor condiţii.

§ 4. Schimbarea componenţilor mustului în procesul fermentaţiei alcoolice

Schimbările componenţilor principali ai mustului depind de tipul vinului şi pot fi considerabile. Spre exemplu, în vinurile de masă seci zahărul aproape că lipseşte. Zaharoza şi hexozele sînt fermentate, şi zahărul rezidual în cantitate de 0,1—0,3% constă în fond din pentoze. În vinurile de alte tipuri zahăr rămîne mai mult.

Cantitatea substanţelor pectice în urma fermentaţiei scade brusc datorită hidrolizei fermentative.

Transformările substanţelor azotate sînt condiţionate de utilizarea lor de către levuri în timpul activităţii vitale şi de eliminarea lor în mediu în urma descompunerii — autolizei celulelor levurilor.

In procesul înmulţirii levurile utilizează azotul amoniacal şi azotul aminoacizilor din must. In această perioadă cantitatea azotului amoniacal scade cu 40—50%. Astfel acizii glutaminic şi asparagic, valina, leicina, izoleicina, cisteina, arginina, triptofanul, tirozina, fenilalanina şi metionina sînt utilizate de către levuri (circa 75—90%).

Conţinutul prolinei, glicinei, lizinei şi cisteinei scade foarte puţin, ceea ce demonstrează că nu toţi aminoacizii sînt la fel de importanţi pentru levuri. După gradul de asimilare de către levuri ei pot fi împărţiţi în trei grupuri:

aminoacizi uşor asimilaţi de levuri (leicina, valina, arginina, fenilalanina, tirozina, acidul asparagic);

aminoacizi mijlociu asimilaţi (alanina, prolina, hidroxiprolina;

aminoacizi greu asimilaţi (triptofanul, gistidina, glicina, cisteina).

Diversitatea gradului de asimilare a aminoacizilor se explică nu numai prin viteza de dezaminare, ci şi prin capacitatea levurilor de a utiliza rămăşiţa dezaminată la sinteza aminoacizilor lipsă.

In timpul aerării mustului gradul utilizării substanţelor azotate de către levuri creşte. Odată cu utilizarea azotului în procesul fermentaţiei are loc şi eliminarea substanţelor azotate în must, în special a aminoacizilor. In primul rînd levurile elimină acidul γ-aminobutilic, alanina, acizii aspargic şi glutaminic, apoi şi alţi aminoacizi.

Spre sfîrşitul fermentaţiei levurile încep să moară, după care urmează autoliza. In această perioadă mediul se înnobilează cu polipeptide şi aminoacizi, cu enzime, cu baze purinice şi piridice.

In timpul fermentaţiei o parte a substanţelor azotate e sedimentată de spirtul format. La fel sedimentează şi tanatele azotate.

Substanţele azotate ale vinului constau atît din substanţele azotate ale mustului, cît şi din substanţele azotate ale levurilor.

O sarcină importantă în vinificaţie este reglarea cantităţii substanţelor azotate în vin, deoarece ele joacă un rol colosal în formarea şi maturarea lui. Factorii de reglare a substanţelor azotate în vin sînt temperatura fermentaţiei şi aerarea. Se ştie că cea mai mică cantitate de substanţe azotate se formează cînd temperatura fermentaţiei e de 15—20°C. Temperaturile mai joase, cît şi cele mai înalte, provoacă creşterea cantităţii substanţelor azotate în vin. Aceasta se explică prin faptul că la temperaturi joase e reţinută înmulţirea levurilor, iar la temperaturi înalte se intensifică autoliza levurilor.

Fermentaţia mustului cu acces de aer duce la scăderea cantităţii substanţelor azotate, indiferent de regimul de temperatură.

In procesul fermentaţiei suferă schimbări considerabile compuşii fenolici. La începutul şi la sfîrşitul fermentaţiei, cînd mustul şi vinul conţin oxigen, are loc oxidarea intensivă a compuşilor fenolici şi sedimentarea lor. Cantitatea antocianilor scade cu 60%. In timpul fermentaţiei are loc regenerarea chinonelor datorită glutationei, care joacă rolul de transmiţător al hidrogenului. Atît timp

cît mustul conţine chinone, glutationa se află în formă oxidată, după reducerea lor completă, se poate găsi şi glutationă în formă redusă.

Compuşii fenolici în interacţiune cu proteinele formează tanate, care sedimentează. În procesul fermentaţiei alcoolice compuşii fenolici fixează parţial aldehida acetică formată. Ca rezultat fermentaţia urmează după ciclul gliceropiruvic, astfel sporind cantitatea glicerinei (în vinurile de Kahetia ajunge pînă la 10 g/l). S. V. Durmişidze explică acest fenomen în felul următor: în timpul fermentaţiei pe boştină catechinele pătrund în interiorul celulei levuriale şi leagă aldehida acetică.

Dacă cantitatea compuşilor fenolici în must depăşeşte 5 g/l, e posibilă reţinerea înmulţirii levurilor şi, deci, şi a fermentaţiei.

În timpul fermentaţiei are loc şi transformarea acizilor din must şi a celor formaţi în procesul fermentaţiei. Aceste transformări pot avea un caracter de oxidare sau pot decurge conform ciclului acizilor di- şi tricarboxilici. E stabilită capacitatea levurilor de a oxida acizii organici — acetic, succinic şi citric.

Cantitatea acizilor volatili, formaţi în procesul fermentaţiei, depinde de condiţii. În condiţii aerobe ea atinge 0,5 g/l, în cele anaerobe — 0,7 g/l. Formarea unei cantităţi minime de acizi volatili în condiţii aerobe A. K. Rodopulo o explică prin oxidarea acidului acetic în acetil — CoA conform ciclului acizilor di- şi tricarboxilici.

În procesul fermentaţiei sedimentează sărurile de kaliu şi calciu ale acizilor tartric şi oxalic, solubilitatea cărora scade odată cu creşterea concentraţiei spirtului.

Schimbarea acidităţii titrabile depinde de cantitatea ei iniţială în must. Dacă aciditatea mustului e înaltă, ea scade în procesul fermentaţiei şi, invers, creşte dacă aciditatea mustului a fost joasă.

Conform datelor lui A. K. Rodopulo, activitatea enzimelor de oxidare în procesul fermentaţiei scade, iar peste cinci zile de fermentare începe inactivarea lor deplină. E dovedit că aproximativ 20% de o-difenoloxidază e utilizată de levuri, iar 80% se inactivează în timpul fermentaţiei. Astfel, acţiunea fermenţilor de oxidare apare pînă la începerea fermentaţiei abundente.

Produsele fermentaţiei — spirtul, aldehida acetică nu participă la inactivarea enzimelor de oxidare. Frînarea activităţii o-difenoloxidazei se observă în cazul cînd în must apar cisteina şi glutationa (formate ca rezultat al activităţii vitale a levurilor).

După părerea lui A. K. Rodopulo, aceasta are loc din cauza că cisteina şi glutationa leagă metalele grele, ce intră în componenţa enzimelor, ceea ce şi duce la inactivarea lor.

În faza de declin levurile elimină în mediu unele enzime: proteinaze, β-fructofuranozidază.

Schimbarea componenţei vitaminelor mustului e determinată de rasa levurilor şi de condiţiile de fermentare. În prima perioadă a fermentaţiei vitaminele mustului sînt absorbite de levuri. Ulterior are loc trecerea inversă a vitaminelor în vin în urma autolizei celule-

lor levurilor. Cantitatea mezoinozitei practic nu se schimbă. În vin a fost descoperită vitamina B_{12}, pe care levurile sînt capabile s-o sintetizeze.

§ 5. Schimbarea potențialului de oxidoreducere în procesul de fermentație a mustului

La prelucrarea strugurilor fără acces de oxigen potențialul de oxidoreducere al mustului căpătat atinge 180 mV, iar în prezența oxigenului — 320 mV. Dacă mustul continuă să fie în contact cu aerul, peste cîteva ore atinge 400 mV și mai mult. Aceasta se explică prin faptul că sub influența catecoloxidazei catechinele se oxidează în chinone, iar sistema polifenoli ⇄ chinonă posedă un potențial de oxidoreducere înalt — 699 mV.

Mărimea potențialului OR depinde de tehnologia preparării mustului și de durata contactului lui cu aerul. Conform datelor lui A. K. Rodopulo, 1 l de must, preparat conform tehnologiei vinurilor de șampanie, absoarbe 3,9—4,0 mg de oxigen, după metoda vinurilor de masă — 5,0—5,5 mg, iar a vinurilor de tip madera cu macerație — 6,2—7,0 mg. În must, în afară de enzimele de oxidare, nimeresc și substanțe tanante, polifenoli și derivații lor — substanțele colorante. Astfel procesele de oxidare se intensifică datorită oxidării polifenolilor și tanidelor cu oxigen sub influența enzimei catecoloxidaza.

Procesele de oxidare se intensifică mai ales în prezența metalelor grele, de aceea potențialul redox crește anume după presarea strugurilor cu ajutorul teascurilor cu șnec.

În procesul fermentației alcoolice potențialul de oxidoreducere scade repede. Aceasta se datorește utilizării oxigenului de către levuri în timpul înmulțirii.

Asupra reducerii potențialului OR acționează temperatura fermentației și doza de sulfitare. Cu cît temperatura fermentației este mai înaltă cu atît mai repede scade potențialul OR. În mustul sulfitat potențialul OR e cu 60—20 mV mai mic, decît în cel nesulfitat.

O reducere considerabilă a potențialului de oxidoreducere are loc în cazul cînd fermentația se petrece în vase închise ermetic sub presiune înaltă.

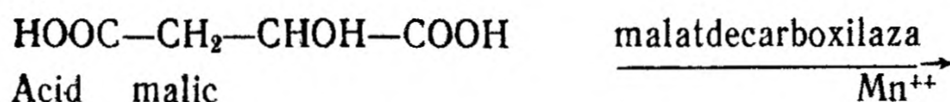
§ 6. Alte tipuri de fermentații

Vinurile posedă proprietăți bactericide. În ele nu se pot dezvolta bacteriile, care nu suportă mediul acid. Paralel cu creșterea concentrației spirtului sporesc și proprietățile bactericide ale vinului. Bacteriile de putrefacție și provocatorii bolilor intestinale, nimerind în vin, repede mor.

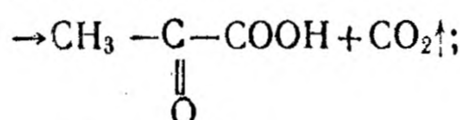
Totodată, în vin se pot dezvolta bacterii — provocatoare a unui șir de fermentări: malico-lactice, citrico-malică, lactică, de manită,

acetică etc. Majoritatea lor, cu excepţia fermentării malico-lactice, provoacă boli ale vinurilor.

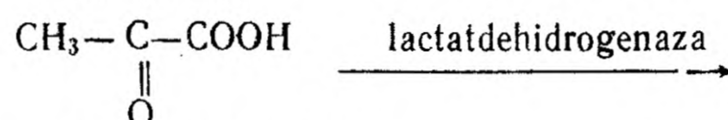
Fermentaţia malico-lactică. Există două teorii, care explică chimismul fermentării malico-lactice. Conform primei, la început malatdecarboxilaza catalizează decarboxilarea acidului malic în piruvic, care apoi, prin intermediul lactatdehidrogenazei, e redus în acid lactic.

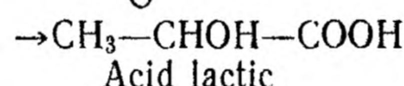

$$HOOC-CH_2-CHOH-COOH \xrightarrow[Mn^{++}]{\text{malatdecarboxilaza}}$$

Acid malic


$$\rightarrow CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH+CO_2\uparrow;$$

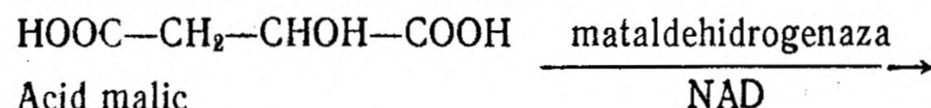
Acid piruvic


$$CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH \xrightarrow{\text{lactatdehidrogenaza}}$$

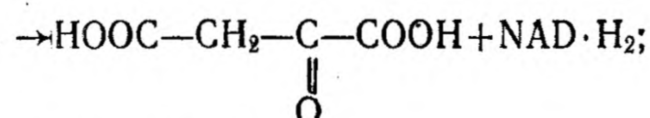

$$\rightarrow CH_3-CHOH-COOH$$

Acid lactic

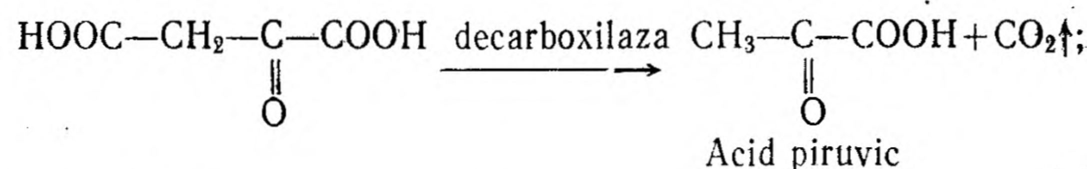
Conform teoriei a doua, sub influenţa malatdehidrogenazei are loc dehidrogenarea acidului malic în acid oxalil-acetic, apoi acesta e supus decarboxilării şi trece în piruvic, care, datorită lactatdehidrogenazei, se reduce în lactic:


$$HOOC-CH_2-CHOH-COOH \xrightarrow[NAD]{\text{mataldehidrogenaza}}$$

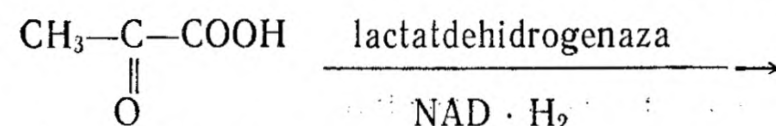
Acid malic

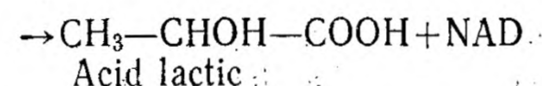

$$\rightarrow HOOC-CH_2-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH+NAD\cdot H_2;$$

Acid oxalil-acetic


$$HOOC-CH_2-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH \xrightarrow{\text{decarboxilaza}} CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH+CO_2\uparrow;$$

Acid piruvic


$$CH_3-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH \xrightarrow[NAD\cdot H_2]{\text{lactatdehidrogenaza}}$$


$$\rightarrow CH_3-CHOH-COOH+NAD$$

Acid lactic

A doua teorie este mai veridică, deoarece în procesul dehidrogenării acidului malic rolul de acceptor al hidrogenului îl joacă NAD. NAD, redus în această reacţie, sub influenţa dehidrogenazei cedează cei doi atomi de hidrogen pentru a reduce acidul piruvic în lactic.

G. Rubero-Gayon şi Peino au constatat că lipseşte corelaţia cantitativă între acidul malic descompus şi acidul lactic format. Ultimul întotdeauna se formează în cantităţi mai mici.

Se ştie că în urma arderii 1 g/mol de acid lactic se degajă 1346 kJ de energie, iar în urma arderii 1 g/mol de acid malic se degajă numai 1322 kJ de energie. Astfel, procesul descompunerii acidului malic în lactic este un proces endotermic, adică decurge cu absorbţie de energie.

Posibil că această energie e căpătată de bacterii în urma oxidării unei părţi de acid malic pînă la CO_2 şi H_2O şi a altor produse sau în urma descompunerii zahărului, care întotdeauna se află în vin.

Cercetările efectuate de Liuti au arătat că în procesul fermentaţiei lactice scade cantitatea unor aminoacizi: glicina, alanina, prolina, arginina, acizii glutaminic şi γ— aminobutiric.

S-a stabilit că atunci cînd fermentaţia malico-lactică e provocată de bacteriile lactice heterofermentative se mai formează şi acetoină, diacetil, acid acetic etc. Cantitatea sporită de diacetil acţionează negativ asupra gustului vinului. De aceea e raţional ca fermentarea malico-lactică să fie provocată de culturile selecţionate a bacteriilor lactice homofermentative.

Acidul malic este asimilat şi de levurile de vin, care îl transformă în acid citric şi în alţi acizi.

În cazul menţinerii vinului pe drojdii cantitatea acizilor organici scade, de aceea vinurile cu aciditatea titrabilă joasă urmează să fie trase devreme de pe ele.

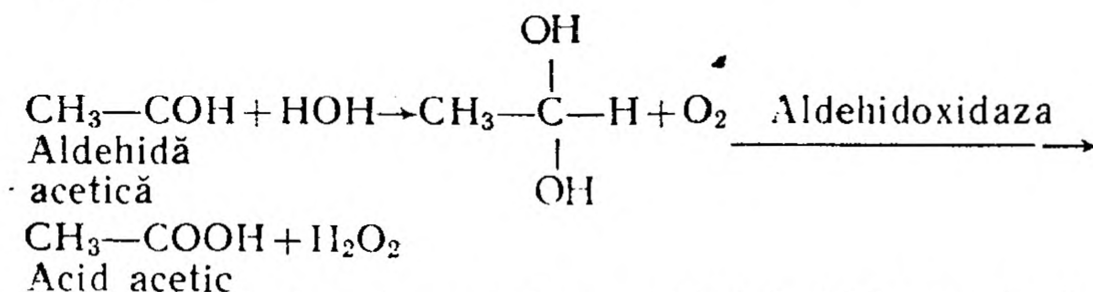
Capacitatea de a descompune acidul malic o au şi levurile genului *Schizosaccharomyces Pombe.* În condiţii aerobe ele descompun acidul malic în CO_2 şi H_2O, iar în condiţii anaerobe — în alcool etilic şi CO_2.

D. K. Cealenko a eliminat din sucurile de pomuşoare şi fructe cultura levurilor *Schizosaccharomyces acidodevorax,* care odată cu fermentaţia alcoolică provoacă şi micşorarea acidităţii, descompunînd acidul malic. El a dovedit că în condiţii anaerobe aceste levuri transformă acidul malic în alcool etilic şi dioxid de carbon.

Pe lîngă acidul malic bacteriile lactice descompun şi zahărul, acizii citric şi tartric, glicerina şi alţi componenţi ai vinului. Astfel, în afară de acid lactic, se mai formează şi acetoină, diacetil, acid acetic şi alţi componenţi, care acţionează negativ asupra buchetului şi gustului vinului.

Fermentarea acetică. Natura biochimică a oxidării alcoolului etilic în acid acetic pentru prima dată a fost studiată de L. Pasteur în anul 1862. Studiind la microscop pelicula unui vin înăcrit, el a descoperit nişte bacterii în formă de bastonaşe, pe care le-a numit *Mycoderma oceti.* Ulterior au fost descoperite mai multe rase ale bacteriilor acetice. Toate bacteriile lactice în condiţii aerobe oxidează alcoolul etilic în acid acetic. Ele sînt capabile spre a oxida alcoolul propilic în acid propionic, alcoolul butiric în acid butiric, glucoza în acid gluconic etc.

Oxidarea alcoolului etilic e legată de dehidrogenarea lui cu ajutorul dehidrogenazelor şi oxidarea aldehidei acetice formate cu aldehidoxidaza. Oxidarea aldehidei acetice are loc după alipirea apei la ea:



$$CH_3{-}COH + HOH \rightarrow CH_3{-}C(OH)_2{-}H + O_2 \xrightarrow{\text{Aldehidoxidaza}} CH_3{-}COOH + H_2O_2$$

Aldehidă acetică; Acid acetic

Ca rezultat se formează peroxidul de hidrogen toxic pentru bacteriile acetice. Însă ele conţin enzima catalaza, care descompune peroxidul de hidrogen.

Condiţiile favorabile pentru acrirea acetică sînt: tăria joasă (mai puţin de 7 vol %) şi temperatura înaltă (30—35°C). Vinurile cu tărie mai mare (12 vol %) şi mai mult sînt rezistente la acrirea acetică.

CAPITOLUL 5

PROCESELE BIOCHIMICE ÎN PERIOADA STABILIZĂRII ŞI ÎNVECHIRII VINULUI

§ 1. Enzimele şi vitaminele vinului

Enzimele vinului. Enzimele vinului constau în fond din enzimele levurilor care trec în vin atît în procesul fermentaţiei alcoolice, cît şi în urma autolizei celulelor levuriale în timpul păstrării vinului pe drojdii. În ceea ce priveşte enzimele strugurilor, ele sînt inactivate în procesul fermentaţiei, în special în vinurile de şampanie. În vinurile de Kahetia, conform cercetărilor efectuate de S. V. Durmişidze, enzimele catecoloxidaza şi peroxidaza rămîn active mult timp la suprafaţa boştinei, de unde ulterior trec în vin. Deci, activitatea enzimelor depinde de tehnologia preparării vinurilor.

Din levuri în vin trec enzimele proteolitice, alcooldehidrogenaza, citocromoxidaza, esterazele, β — fructofuranozidaza, β — glucozooxidaza. În vinuri rămîn şi enzimele fermentaţiei alcoolice.

Importanţa practică a enzimelor în vin e studiată foarte superficial. Ele joacă un anumit rol în unele procedee tehnologice. Spre exemplu, în procesul presării strugurilor e necesară intensificarea acţiunilor enzimelor pectolitice şi proteolitice pentru sporirea hidrolizei substanţelor pectice şi proteice; astfel se măreşte cantitatea mustului şi se descompun substanţele proteice, prin urmare e prevenită tulburarea proteică a vinurilor. Pentru realizarea acestor procese în timpul presării strugurilor se introduc preparate fermentative.

Pentru activarea fermenţilor de oxidare (catecoloxidaza şi peroxidaza), atît de necesari în prepararea vinurilor de Kahetia, vinul

se păstrează timp îndelungat pe boştină după terminarea fermentaţiei alcoolice.

Pentru alte vinuri, în special pentru cele albe europene de masă şi de şampanie, enzimele de oxidare sînt dăunătoare. O importanţă deosebită o are catalaza care descompune peroxizii ce catalizează procesele de oxidare. Însă, de regulă, vinurile nu conţin catalază. Ea se află în stare puţin activă numai în vinurile de şampanie, sursa ei fiind levurile.

În vinificaţie e folosită enzima glucozooxidaza pentru oxidarea glucozei în acid gluconic, ca urmare tot oxigenul se consumă şi nu poate oxida alţi componenţi ai vinului. În urma acestui proces se formează peroxid de hidrogen, care se cere distrus, cu ajutorul catalazei; în caz contrar vinul se poate supraoxida.

Procesul de bază al maderizării vinului, conform cercetărilor lui V. I. Nilov, este formarea aldehidelor în urma dezaminării de oxidare a aminoacizilor. Deci, pentru prepararea vinurilor maderizate de calitate superioară e necesară intensificarea activităţii enzimelor proteolitice, mai ales a aminocarboxilazei, care iau parte la decarboxilarea aminoacizilor şi la formarea aldehidelor.

În prepararea şampaniei o importanţă deosebită o au enzimele hidrolitice, şi anume esterazele, β — fructofuranozidaza, proteazele etc. Esterazele, spre exemplu, intensifică reacţia de descompunere şi de formare a esterilor compuşi, care înnobilează buchetul şampaniei. De activitatea acestor enzime e strîns legată şi formarea substanţelor aromate în vin.

Din cele expuse se poate trage următoarea concluzie: enzimele strugurilor sînt necesare pentru producerea vinurilor oxidate de Kahetia şi a maderei, iar în producerea vinurilor neoxidate seci ele joacă un rol negativ, de aceea mustul e prelucrat cu bentonită (pentru înlăturarea enzimelor de oxidare). Enzimele levurilor sînt preţioase în producerea şampaniei, heresului, maderei şi a altor vinuri, deoarece ele participă la procesele de maturare a vinurilor.

Vitaminele vinului. În urma fermentaţiei mustului şi maturării vinului cantitatea vitaminei B_1 scade datorită utilizării ei de către levuri. Vinurile roşii conţin o cantitate mai mare de vitamină B_1 decît cele albe. Aceasta se explică prin faptul că vinurile roşii în procesul preparării au un contact mai îndelungat cu pieliţa şi seminţele, unde se şi află această vitamină.

Levurile, în comparaţie cu strugurii, conţin mai multă vitamină B_2 (riboflavină). În procesul fermentaţiei cantitatea ei scade, dar peste 10—12 zile brusc creşte. Vinurile albe conţin aproximativ 0,15, iar cele roşii pînă la 0,4 mg/l de vitamina B_2.

Cantitatea vitaminei B_6 (piridoxina) în procesul fermentaţiei scade, iar în urma autolizei celulelor de levuri creşte şi atinge în sfîrşit cantitatea iniţială. Vinurile albe conţin 0,1—0,7, în mediu 0,3 mg/l de această vitamină.

Cantitatea vitaminei H (biotina) în vin atinge 2,8—4,5 mkg/l.

Cantitatea vitaminei B_{12} în vin în comparaţie cu cea din must creşte de la 0,05 pînă la 0,15 mk g/l.

Cantitatea acidului folic în vin e cu mult mai mică ca în must: 0,05—0,3 mg/l. În șampanie conținutul lui e ceva mai mare — pînă la 0,5 mg/l. Probabil, înnobilarea șampaniei cu acid folic are loc în procesul maturării ei pe drojdii.

Acid pantotenic în vin este ceva mai puțin decît în struguri: de la 0,5 pînă la 1,2, în medie 0,9 mg/l. În cazul păstrării îndelungate a vinului cantitatea lui scade în jumătate.

Cantitatea vitaminei PP (acid nicotinic) în vin variază între 0,6—0,9 mg/l. În șampania la sticle cantitatea ei este cu mult mai mare — 1—1,5 mg/l, aceasta se datorește menținerii pe drojdii timp de 3 ani. În procesul fermentației cantitatea acestei vitamine se micșorează cu 25—80%. Cu toate că levurile au capacitatea de a sinteza această vitamină, cantitatea ei în vin niciodată nu atinge nivelul inițial. Vinurile roșii conțin ceva mai multă vitamină PP, iar cele albe — pînă la 1,4 mg/l. În procesul păstrării și prelucrării vinului cantitatea acestei vitamine nu se schimbă.

Mezoinozita — cantitatea ei în vinuri variază de la 200 pînă la 700 mg/l. În procesul fermentării malolactice cantitatea ei scade.

Cantitatea vitaminei C (acid ascorbic) în timpul prelucrării strugurilor scade brusc, deoarece este oxidată de chinone și se transformă în acid dehidroascorbic. În procesul fermentației acidul dehidroxiascorbic nu se reduce, de aceea cantitatea acidului ascorbic în vinurile tinere nu depășește 6—12 mg/l, iar în cele maturate e și mai mică — 2—3 mg/l.

Pentru înnobilarea vinurilor cu vitamine e necesară menținerea lor pe drojdii. Cantitatea vitaminelor depinde și de tehnologia preparării lor. Tratarea vinurilor cu bentonită și cu ferocianură de potasiu micșorează cantitatea vitaminelor.

§ 2. Păstrarea vinurilor tinere pe sedimente de levuri

În urma contactului vin — levuri are loc înnobilarea vinurilor cu produsele autolizei și vinurile capătă nuanțele caracteristice soiului dat.

Autoliza (din grecește auto — de la sine, singur; lizis — dizolvare) este ultima fază de existență a levurilor, care începe după pieirea lor. În procesul autolizei mai continuă încă acțiunea enzimelor celulelor levuriale, care distrug pereții lor. În urma acestui proces mediul înconjurător (vinul) se înnobilează cu endoenzimele levurilor, care nu pot părăși celula vie. Autoliza poate începe de la sine după terminarea fermentației alcoolice ca rezultat al degradării îndelungate și a pieirii levurilor, sau poate fi provocată artificial prin tratarea levurilor cu căldură sau prin alte metode. Substanțele eliminate de levuri în procesul autolizei se numesc autolizate (lizate). Ele influențează asupra componenței chimice și a proprietăților organoleptice ale vinului.

Cea mai frecventă și mai bine studiată metodă de autoliză este menținerea îndelungată a vinului pe sedimentul de levuri (3—6 luni) după terminarea fermentației alcoolice. Vinurile căpătate în

urma acestui procedeu poartă denumirea de vinuri lizate şi sînt folosite pe larg mai ales în producerea şampaniei de rezervor. Asupra rezultatelor menţinerii îndelungate a vinului pe levuri influenţează un şir de factori. Mai întîi de toate — aerarea. În urma contactului vin—levuri fără acces de aer se capătă vinuri cu calităţi caracteristice vinurilor calitative de şampanie. În prezenţa cantităţii suficiente de oxigen se capătă vinuri cu proprietăţi caracteristice vinurilor de heres. Trebuie menţionat că înnobilarea vinurilor lizate cu produsele de descompunere a levurilor creează condiţii favorabile pentru dezvoltarea microflorei străine, în special bacteriilor lactice şi acetice. De aceea maturarea lizată cere respectarea unui şir de condiţii şi un control microbiologic strict.

În primul rînd, temperatura păstrării vinului trebuie să fie joasă (12—15°C). În al doilea rînd, pH-ul vinului e de dorit să fie 3,0—3,2, dar să nu depăşească 3,5. Să fie folosite vase tehnologice mari, aceasta micşorează riscul oxidării. Durata contactului vin — levuri să nu depăşească 6 luni (de obicei vinurile sînt trase de pe levuri imediat după terminarea fermentaţiei abundente). La prepararea vinurilor lizate trebuie folosite culturi selecţionate de levuri şi o sulfitare cumpătată. Rasa levurilor folosite la prepararea vinurilor lizate nu joacă un rol deosebit. Vinurile lizate sînt mai stabile faţă de sedimentarea «pietrei de vin» (precipitare tartrică), probabil, din cauza înnobilării lor cu coloizi de protecţie. Maturarea lizată duce la înnobilarea vinului cu substanţe azotate, dar cu cît vinul fermentat conţine mai multe substanţe azotate, cu atît e mai scurtă durata de contact vin — levuri.

A doua metodă de autoliză, la care se recurge adesea, mai ales pentru pregătirea preparatelor fermentative, este tratarea levurilor sau a vinului pe levuri cu căldură. De regulă, cu cît temperatura e mai mare, cu atît durata tratării e mai scurtă. Cu cît vinul conţine mai multe levuri, cu atît e mai scurtă durata de încălzire. Concentraţia optimă a levurilor e de 5 g/l. Diferiţi cercetători recomandă regimuri diverse de încălzire, spre exemplu, 3—5 zile la 45°C, 12 ore la 60°C, 30 min. la 120°C.

Uneori sînt folosite şi alte procedee pentru inactivarea levurilor, spre exemplu, congelarea lor pînă la temperatura aerului lichefiat (181°C) şi dezgheţarea ulterioară rapidă sau prin acţiunea ultrasunetului.

Procedeele artificiale ale autolizei au un şir de priorităţi: succese rapide, dirijarea comodă a procedeelor şi a controlului lor; lipsa diferitelor fenomene colaterale şi a dezvoltării microflorei străine.

Vinurile lizate şi-au găsit o întrebuinţare largă în producerea şampaniei. Ele se folosesc cu succes şi la producerea vinurilor albe de masă, a celor tari şi de desert.

Contactul vinurilor albe şi roşii cu levurile duce la înnobilarea lor cu aminoacizi, amide, peptide şi cu fosfor. Astfel, cantitatea azotului aminic în vinurile roşii creşte de 1,7 ori, a fosforului — de 1,2—1,8 ori.

După o lună de contact vin — levuri cantitatea aminoacizilor

se mărește cu 30%, după 2 luni — cu 65%, iar după 3 luni — cu 67%. Peste 3 luni se observă și degajarea amoniacului. În urma contactului cu drojdiile în vin se acumulează următorii aminoacizi: asparaginic, valina, glicina, leucina, izoleucina, lizina, metionina, serina, teonina, tirozina, triptofanul, fenilalanina și prolina (tabelul 18).

Procesul de autoliză depinde de temperatură: la ±5°C autoliza aproape că n-are loc; la 18°C e neactivă, la 40°C decurge intensiv și se termină în decurs de o zi.

Prezența zahărului în mediu frînează autoliza, amestecarea mediului o intensifică.

§ 3. Tratarea termică a vinurilor

Datorită faptului că vinurile se păstrează în beciuri, procesele chimice și biochimice decurg foarte lent și maturarea lor poate să dureze ani în șir. De aceea în vinificație se folosesc larg procedee fizico-chimice pentru activarea reacțiilor și accelerarea maturării vinurilor.

Astfel de procedee sînt tratarea termică, cu ultrasunet, cu raze ultraviolete, cu raze — γ, și adăugarea preparatelor fermentative.

Cele mai bune rezultate au fost căpătate în urma tratărilor termice.

Tabelul 18

Cantitatea aminoacizilor în must în procesul fermentației lui și în urma contactului vin — drojdii, mg/l

Aminoacizi	Must	Vin tînăr	Contactul cu drojdiile, luni		
			1	2	3
Alanina	—	3,8	9,1	18,2	20,4
Arginina	114,0	2,3	3,5	5,7	6,7
Acidul asparagic	7,6	4,0	10,0	23,0	26,0
Valina	17,0	4,8	9,7	19,8	21,0
Acidul glutaminic	60,0	21,0	46,0	93,0	59,0
Glicina	7,1	10,4	18,4	26,0	28,3
Gistidina	12,8	2,5	5,4	9,7	8,7
Izoleicina	8,8	5,4	10,6	19,3	22,6
Leicina	14,0	8,1	13,5	29,0	32,0
Lizina	4,4	4,7	10,0	24,0	293
Metionina	0,7	1,5	3,8	8,6	9,2
Fenilalanina	28,0	4,3	10,1	22,4	26,7
Treonina	216,0	180,0	176,0	216,0	214,0
Serina	43,0	33,0	42,0	57,0	60,0
Proenina	—	2,3	5,4	11,2	13,9
Tirozina	7,5	4,3	9,5	17,1	18,8
Triptofanul	3,9	2,5	4,0	6,4	7,6
In total:	544,8	294,9	387,0	605,6	604,2

Tratarea vinurilor cu frig. Are ca scop stabilizarea vinurilor față de tulburările tartice. Se știe că cea mai mare parte a acidului tartric în vin se află în formă de sare acidă a kaliului, puțin solubilă și de aceea este de obicei în stare suprasaturată. Dacă o parte a acestei sări n-ar fi înlăturată din vin prin intermediul frigului, atunci vinul s-ar tulbura în procesul realizării.

Tratarea cu frig prevede răcirea rapidă a vinurilor pînă la —5°C. La această temperatură vinul se menține două zile, apoi se separă de sedimentul format. În afară de hidrotartratul de kaliu sedimentează și o parte din substanțele pectice, proteice și unii polifenoli condensați. Împreună cu sedimentul este înlăturată și o parte din microflora vinului. Solubilitatea oxigenului din aer în vin crește. În timpul tratării cu frig enzimele din sucuri și vinuri sînt în stare inactivă.

Tratarea vinurilor cu căldură. Scopul acestei tratări este schimbarea esențială a componenței și calității vinurilor și accelerarea maturării lor. Eficacitatea tratării cu căldură e determinată de mărimea temperaturii, de durata acțiunii ei și de accesul oxigenului din aer. Încălzirea cu acces mare de aer provoacă reacții de oxidare, iar în lipsă de aer — reacții de reducere. Combinînd cei trei factori sus-numiți, pot fi căpătate rezultate diverse ale tratării vinurilor cu căldură. Cu cît temperatura e mai înaltă, cu atît mai mică trebuie să fie durata ei de acțiune.

E stabilit că tratarea corectă cu căldură acționează favorabil asupra calității tuturor tipurilor de vin. Cu toate acestea tratarea cu căldură este mai frecventă pentru vinurile tari și de desert, care se maturează foarte lent la temperatură obișnuită.

Pasteurizarea. Pasteurizarea constă în încălzirea rapidă a vinului pînă la 68—65°C cu menținerea acestei temperaturi timp de cîteva minute. Ea se află în cazul nimicirii microorganismelor și inactivării unor enzime, în special a celor de oxidare. Deseori pasteurizarea se face înainte de îmbutelierea vinului în butelii de sticlă. Cel mai frecvent ea se aplică pentru vinurile albe cu o tărie joasă și pentru cele cu o aciditate redusă, care nu sînt stabile la boli.

Oxigenul dizolvat în vin poate provoca în procesul pasteurizării o nuanță străină în gust. În procesul pasteurizării are loc denaturarea proteinelor termolabile (instabile la căldură) din vin, de aceea pasteurizarea, de rînd cu alte procedee legate cu încălzirea, poate servi drept procedeu de stabilizare a vinurilor împotriva tulburărilor proteice.

Maderizarea. Prin maderizare se subînțelege atît metoda de tratare a vinului, cît și schimbările ce au loc în vin.

Maderizarea poate fi înfăptuită prin încălzirea vinului pînă la 60°C timp de cîteva luni sau prin menținerea vinuluui la temperaturi ridicate timp de 2—3 sezonuri de vară pe terenuri solare sau în încăperi de tip seră. În primul caz dezvoltarea proceselor microbiologice este exclusă și se folosește, de regulă, vin sec, nealcoolizat, pentru a reduce pierderile. În cazul al doilea se păstrează acti-

vitatea enzimelor, iar tăria vinurilor trebuie să asigure integritatea lor de la acţiunea microbilor. Paralel cu încălzirea trebuie asigurat vinului accesul oxigenului din aer, iar în procesul maderizării în vase mari, ermetice (ceea ce reduce pierderile), e necesară introducerea dozată a oxigenului.

A treia condiţie de maderizare este participarea în ea a lemnului de stejar. În procesul maderizării în butoaie aceasta are loc de la sine. În schimb tara voluminoasă, ermetică trebuie căptuşită în interior cu doagă de stejar sau în procesul maderizării se introduc fibre lemnoase prelucrate special.

Ca rezultat al maderizării, datorită proceselor de oxidare care decurg, au loc un şir de schimbări considerabile. Culoarea vinurilor albe devine brun-roşcată (produsele oxidării polifenolilor). Sedimentează fenolii condensaţi, proteinele şi alte substanţe. Scade cantitatea spirtului. Simţitor se măreşte (aproximativ de 10 ori) cantitatea aldehidelor, acetalilor şi a esterilor volatili.

Mecanismul chimic al maderizării a fost studiat ani la rînd de către P. N. Ungureanu. El a dedus că în această perioadă se formează acid peroxiacetic, care joacă rolul de catalizator al oxidării. Enzimele în procesul maderizării nu au nici o însemnătate (dacă ea decurge la temperaturi mari).

Vinurile maderizate se deosebesc printr-un conţinut înalt de acizi volatili (pînă la 1,5 g/l), ceea ce nu influenţează asupra calităţii lor. Vinurile maderizate trebuie să fie bogate în substanţe tanante (nu mai puţin de 0,4 g/l). Aceşti indici pot fi atinşi în madera calitativă prin fermentaţia parţială pe boştină, iar în cea ordinară — prin introducerea în cupaj a fracţiilor presate şi a vinului de ciorchini.

Vinurile de ciorchini sînt căpătate în urma presării şi fermentării ciorchinilor separaţi din bobiţe. Ciorchinii din zdrobitorul-desciorchinător sînt îmbibaţi cu must. În urma presării lor se obţine 1 dal de must dintr-o tonă de struguri prelucraţi. Acest must este bogat în substanţe tanante.

Substanţele tanante şi fenolice oxidate (atît a strugurilor, cît şi din doaga de stejar) joacă un rol important în procesul de maderizare.

În vinurile seci maderizate nivelul zaharităţii maderei gata (aproximativ 4% de zahăr) se atinge în urma cupajării după procesul de maderizare.

Capacitatea vinului de a se maderiza depinde în mare măsură de soiul de viţă. Unul din cele mai bune soiuri pentru maderizare se socoate Sersiali. Rezultate bune au fost căpătate şi în urma maderizării vinului din soiul Rcaţiteli.

Menţinerea vinurilor la cald. Scopul ei principal este accelerarea maturării vinurilor, mai ales a celor tari şi dulci (în special de tipul Portwein). Durata tratării termice — de la cîteva luni (în sezonul de vară) pînă la 2—3 ani. Pentru menţinerea la cald se folosesc încăperi de suprafaţă, terenuri deschise şi încăperi de tip seră încălzite de soare. Se mai foloseşte şi încălzirea artificială a

incăperilor. Dozarea puţin mai mică a căldurii şi a oxigenului decît la maderă duce la un efect slăbit de maderizare, numit în enologie «portweinizare».

Menţinerea la cald a vinurilor accelerează considerabil toate procesele ce decurg în ele. Vinurilor menţionale la cald le este caracteristică reacţia carbonilaminică, care duce la formarea substanţelor, numite melanoidine. Ele sînt rezultatul combinării aminoacizilor cu zăharurile. Melanoidinile pot schimba radical culoarea vinurilor (devin brune) şi gustul lor (nuanţe de coajă de pîine de secară etc.). E dovedit că reacţia formării melanoidinelor decurge în 50 de etape cu formarea multor produse, inclusiv a CO_2 şi amoniacului. Sulfitarea frînează reacţia carbonilaminică. Alcoolul etilic accelerează reacţia. Varietatea aminoacizilor şi zăharurilor care intră în reacţia carbonilaminică determină şi varietatea nuanţelor din buchetul şi gustul vinurilor.

Dacă menţinerea vinurilor are loc la o temperatură ce nu depăşeşte 40°C, în procesele ce decurg iau parte activă şi enzimele.

§ 4. Procesele de oxidoreducere din vin

Procesele de oxidoreducere, ce decurg în vinuri, sînt determinate de oxigenul din aer absorbit în timpul procedeelor tehnologice (pritoc, filtrare). Solubilitatea oxigenului în vin depinde de temperatură, tărie şi de cantitatea substanţelor extractive. Odată cu ridicarea temperaturii şi a extractivităţii solubilitatea oxigenului scade, iar cu creşterea concentraţiei spirtului — creşte. Solubilitatea maximă a oxigenului în vin poate varia în limitele 8—10 mg/l. Conform unor date, solubilitatea oxigenului poate fi mult mai înaltă datorită formării unei emulsii. O parte din oxigen se leagă ireversibil cu componenţii vinului în formă de compuşi peroxidici. Cantitatea peroxidului de hidrogen în vin poate atinge 3 mg/l.

În timpul păstrării cantitatea oxigenului din vin treptat se micşorează datorită consumării lui în procesele de oxidare. Viteza de consumare a oxigenului din vin depinde de temperatură, de con-

Tabelul 19

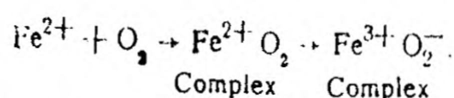
Consumul de oxigen, mg/l

Concentraţia iniţială a oxigenului, dizolvat în vin	Cantitatea de oxigen absorbit de vin în medie pe zi (experienţa efectuată timp de 10 zile)	
	la oxidare	de către bacteriile acetice
3,2—3,4	0,09	0,05
7,5—7,4	0,38	0,07
15,3—16,5	0,97	0,23
24,8—23,3	0,82	0,94

centrația oxigenului dizolvat și de compoziția chimică a vinului. În mediu pe zi se consumă 0,5 mg/l de oxigen (tabelul 19).

Asupra intensității absorbției oxigenului în vin acționează cantitatea compușilor fenolici, acidului sulfuros, unor acizi organici și a unui șir de metale, prezența enzimelor de oxidare.

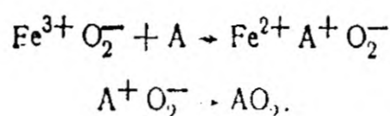
Consumarea oxigenului crește considerabil odată cu adăugarea în vin a anhidridei sulfuroase și taninului. Dacă din vin sînt înlăturați în întregime fierul și cuprul, consumarea oxigenului scade brusc. Aceasta se explică prin faptul că cuprul joacă rolul de catalizator. Acțiunea catalitică a fierului bivalent poate fi reprezentată astfel:


$$Fe^{2+} + O_2 \rightarrow \underset{\text{Complex}}{Fe^{2+}O_2} \rightarrow \underset{\text{Complex}}{Fe^{3+}O_2^-}$$

În procesul acestei interacțiuni elecrtonul de la fier e transferat la oxigenul molecular, în urma cărui fapt are loc activizarea oxigenului și trecerea fierului în fier trivalent.

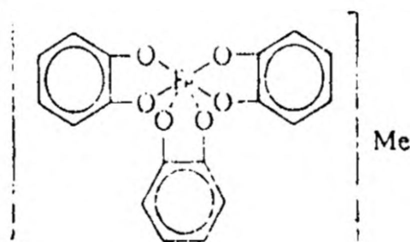
Ca rezultat al interacțiuni acestui complex dublu cu substratul oxidabil (spre exemplu fenolii) se formează un complex triplu, în care electronii sînt atrași de la substratul oxidat spre fierul trivalent, reducîndu-l în bivalent.

Radicalul anionic al oxigenului format se elimină din complex și oxidează substratul. În acest complex triplu fierul leagă și activează nu numai oxigenul, ci și substratul. Interacțiunea complexului dublu cu substratul poate fi reprezentată astfel:


$$Fe^{3+}O_2^- + A \rightarrow Fe^{2+}A^+O_2^-$$
$$A^+O_2^- \rightarrow AO_2.$$

Vinurile roșii conțin o cantitate mare de fenoli, care formează ușor complecși cu fierul.

Complexul fierului cu pirocatechina poate avea următoarea structură *(după Veinland)*:

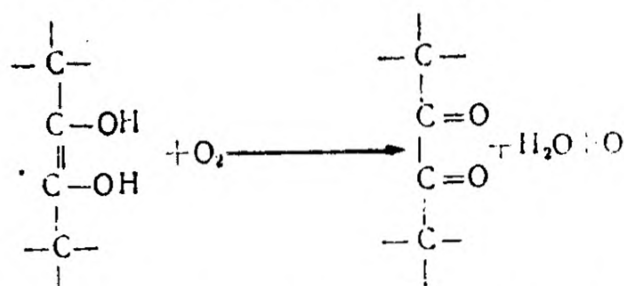


Metalele, în special fierul, pot forma săruri complexe și cu acizii organici - citric, malic, tartric. Aceste săruri posedă capacități catalitice mult mai mari decît sărurile neorganice ale fierului.

Conform datelor lui A. K. Rodopolo, consumarea ogixenului în prezența tartratului acid de fier e de cinci ori mai mare decît în prezența sulfatului de fier.

Unii hidroxiacizi nesaturați ca, bunăoară, acidul ascorbic, po-

sedă de asemenea capacitatea de a activa oxigenul:



Anume formarea oxigenului atomar determină apariția în vinurile în care a fost adăugat acidul ascorbic a nuanțelor de supraoxidare în urma aerării. Astfel de nuanțe nu pot apărea în vinurile ce conțin SO_2, polifenoli și alți compuși ușor oxidabili. De aceea în vinurile roșii foarte rar apar nuanțe de supraoxidare.

Consumarea oxigenului în vin crește brusc în prezența diferitelor oxidoreductaze. În urma adăugării glucooxidazei în vin oxigenul dispare aproape complet timp de 24 de ore.

Dacă vinul conține microorganisme aerobe, oxigenul se consumă pentru întreținerea activității lor. Rolul microorganismelor în consumarea oxigenului e mare și depinde de specia microorganismelor și de numărul lor

Dacă vinul nu conține oxigen, microorganismele aerobe mor în decurs de citeva zile la temperatura de 28°C sau a cîtorva săptămini la 10°C, mai ales în prezența unor cantități nu prea mari de SO_2.

Conform datelor lui V. I. Nilov, S. T. Tiurin, vinul consumă oxigen în perioada de maturare de la 20 pînă la 200 mg/l, în dependența de tipul lui (tabelul 20).

Tabelul 20

Cantitatea de oxigen consumat de vin, mg/l

Tipul vinului	Cantitatea totală de oxigen	Doza minimală de oxigen, consumată o singură dată, la temperatura de	
		15–20°C	mai jos de 15°C
Șampanie			
pH<3,0	20—25	3	4—5
pH>3,0	20	1,5	4—5
De masă			
alb	20—30	2	7—8
roșu	30—40	3	7—8
Portwein			
alb	50—65	4	10
roșu	50—65	5	10
Muscat	30—50	3	6
Madera	150—200	10—15	—

Surplusul de oxigen acţionează nefavorabil asupra stabilităţii, culorii, aromei şi gustului vinului (apar nuanţe de supraoxidare). Insuficienţa oxigenului, după cum a arătat încă L. Pasteur, de asemenea nu permite căpătarea vinurilor stabile cu aramă şi gust bine dezvoltat.

Astfel, dozarea oxigenului se cere reglată prin intermediul diferitelor procedee tehnologice.

§ 5. Transformările componenţilor de bază în perioada de maturare a vinurilor

Prin maturare se subînţelege păstrarea vinului în condiţii care îi înnobilează calitatea. Eficacitatea maturării, sau înnobilării calităţii vinului, depinde de următoarele condiţii: durata păstrării; mărimea vaselor tehnologice şi a materialului din care sînt construite; tipul vinului; temperatura în încăpere.

Vinul maturat, gata de realizare, de regulă, încă nu posedă calitatea optimă. În urma maturării vinului la sticle în condiţii anaerobe el capătă nuanţe speciale în gust şi buchet, caracteristice vinurilor de calitate înaltă. Această perioadă e caracteristică pentru foarte puţine vinuri, predestinate realizării.

Durata învechirii vinurilor la sticle la o temperatură joasă (10—12°C) poate fi de la 2—3 ani pînă la 100 şi mai mult, în dependenţă de compoziţia vinului. Cu cît vinul conţine mai mult spirt şi extract, în special zahăr, cu atît mai îndelungat el îşi păstrează calităţile sale în timpul maturării la sticle. Termenul maxim de maturare la sticle pentru vinurile de masă albe e de 10—20 de ani, pentru cele roşii de masă — pînă la 30, a celor de desert şi tari — 50—100 de ani şi mai bine.

Chiar şi în timpul păsrtării la sticlă, cînd accesul oxigenului este exclus, în vin continuă să aibă loc procese de oxidoreducere datorită interacţiunilor sistemelor de oxidoreducere din el. În rezultat vinul ce a atins calitatea optimă treptat începe a se înrăutăţi, adică «moare». De aceea colecţiile de vinuri îmbuteliate la întreprinderile mari periodic se controlează de către degustatori.

Vinurile vechi (bătrîne) la sticle au un şir de particularităţi. Culoarea vinurilor albe de obicei e mai intensă decît a celor tinere. Vinurile roşii însă treptat pierd pigmenţii antocianici şi devin chihlimbarii-gălbui (datorită oxidării substanţelor tanante), apropiindu-se de culoarea vinurilor albe învechite. Se formează un buchet deosebit, apreciat de cunoscători, în care sînt atenuate şi schimbate particularităţile soiului, în schimb apar nuanţe noi — răşinoase, de ciuperci etc. Gustul vinului învechit devine armonios, fără evidenţierea unor părţi ale lui (spirt, aciditate, astringenţă). Pe pereţii sticlelor se formează un sediment dens («cămaşa»), care constă din cristale de piatră de vin, polizaharide, proteine, polifenoli condensaţi. De aceea înainte de realizare vinurile învechite la sticle trebuie trase de pe sediment foarte atent.

Pentru vinurile învechite e firească creşterea cantităţii esterilor

(de obicei nevolatili), formați în urma interacțiunii îndelungate a spirtului (în fond etilic) cu acizii nevolatili ai vinului. Învechirea vinurilor decurge la un potențial de oxidoreducere jos. Învechirii sînt supuse numai vinurile «liniștite» (nu cele spumante), deoarece vinurile spumante pierd repede CO_2, iar odată cu el — și proprietățile specifice.

Astfel, perioadele de maturare și învechire a vinului sînt cele mai îndelungate în dezvoltarea vinului și se caracterizează prin procese complicate, la care participă toți compușii chimici de bază ai vinului. Varietatea acestor procese e oglindită în schema 6.

Hidroliza	Substanțe azotate Compuși fenolici Glucide	Peptide Aminoacizi Monozaharide Aglicone Acizi
Procese de oxidoreducere	Compuși fenolici Substanțe azotate Glucide, acizi organici Aldehide Alcooli	Chinone Aldehide Acizi
Esterificarea	Alcooli Acizi	Esteri
Formarea melanoidinelor	Substanțe azotate Compuși carbonici	Aldehide Acizi Alcooli Reductone Melanoidine
Condensarea	Substanțe azotate Compuși fenolici	Tanante Tanine

Schema 6. Procesele ce au loc în vin în perioada maturării

CAPITOLUL 6
PARTICULARITĂȚILE PROCESELOR BIOCHIMICE ALE TEHNOLOGIEI UNOR VINURI SPECIALE

§ 1. Vinurile de șampanie (de bază)

Vinurile de șampanie se prepară pe baza vinurilor seci albe, tinere, din anumite soiuri de viță-de-vie, folosindu-se nu numai soiuri albe, ci și unele roșii cu sucul incolor (spre exemplu Pino negru, Caberne), la care mustul ravac și de prima presiune (numai aceste fracțiuni sînt folosite pentru șampanie) este practic incolor. Pentru

înnobilarea calităţii vinului şampanizat în cupajul pentru şampanizare se introduce o cantitate anumită de vinuri maturate.

Vinurile de şampanie trebuie să corespundă anumitor cerinţe. Ele trebuie să conţină o cantitate moderată de spirt (10—10,5 vol %), ce poate fi atinsă în urma recoltării strugurilor cu o zaharitate comparativ joasă (17—19%). Surplusul de spirt complică fermentaţia repetată şi provoacă îngrelarea gustului vinului gata. A avea în vedere că fermentaţia repetată sporeşte cantitatea spirtului cu încă 1,3 vol %.

Aciditatea titrabilă trebuie să fie destul de înaltă (7—9 g/l), iar aciditatea volatilă cît mai joasă (pînă la 0,8 g/l), pH-ul 2,8—3,0.

Vinul trebuie să fie de culoare galben-deschisă, ca paiul, fapt ce mărturiseşte despre un conţinut redus de substanţe tanante şi despre oxidarea joasă a vinului. Aroma vinului trebuie să fie puternică, fină şi complicată, ceea ce depinde în mare măsură de componenţa uleiurilor eterice din struguri.

Conţinutul proteinelor trebuie să asigure spumarea vinului. Cantitatea substanţelor azotate e necesar să asigure activitatea levurilor în procesul fermentaţiei repetate. Fermentaţia malolactică trebuie să decurgă în întregime.

Aciditatea titrabilă şi aciditatea activă înalte a vinurilor de şampanie asigură gustul împrospătător şi frînează procesele de oxidare.

§ 2. Notiuni generale despre tehnologia vinurilor spumante (şampaniei)

Vinurile ce conţin dioxid de carbon se împart în saturate cu CO_2 natural — în urma fermentaţiei a doua în vase ermetic închise sub presiune şi se numesc spumante; şi gazoase sau spumoase, în care CO_2 e adăugat artificial.

Vinurile saturate cu CO_2 natural se împart în felul următor:

Şampanie sovietică — vin, preparat după o tehnologie specială prin a doua fermentaţie a vinurilor de bază căpătate din soiurile albe şi roşii după metoda albă de prelucrare;

vinuri spumante, obţinute prin fermentaţia secundară a vinurilor seci sau alcoolizate în vase închise ermetic după tehnologia primită pentru fiecare denumire luată aparte;

vinuri spumante naturale demidulci, obţinute în urma fermentaţiei mustului în rezervoare închise ermetic sub presiune cu sistarea fermentaţiei la o anumită etapă.

După metoda de şampanizare deosebim cîteva tipuri de Şampanie sovietică: la sticlă, de rezervoare după metoda întreruptă şi de rezervoare după metoda continuă. După metoda la sticlă se capătă un vin de calitate bună, dar cere cheltuieli mari, maturare îndelungată (2—3 ani) şi e foarte costisitor. Principalele momente ale acestei tehnologii sînt: în vinul de bază, pregătit în prealabil (limpezire, stabilizare, cupaj), se adaugă soluţie de zaharoză şi maia de levuri selecţionate. După agitare amestecul se toarnă în sticle de şampanie (tiraj), se închid, dopurile se fixează, apoi sticlele se

aşează orizontal la răcoare (12°C) pentru a doua fermentare. Periodic se controlează corectitudinea fermentaţiei. După terminarea fermentării repetate, pentru care sînt necesare 1—1,5 luni, sticlele cu vin se mai păstrează încă 3 ani. În decursul păstrării are loc autoliza totală a levurilor, vinul e înnobilat cu autolizate, binevenite pentru calitatea şampaniei.

După expirarea termenului de păstrare sedimentul se aduce la dop (remuajul), apoi e aruncat împreună cu dopul şi cu o cantitate mică de vin (degorjare), se adaugă în fiecare sticlă o cantitate anumită de licoare, iar sticlele se dopuiesc cu dopuri noi. După păstrarea de control vinul este expediat.

În procesul metodei de rezervoare întrerupte fermentaţia repetată are loc în rezervoare speciale, de obicei metalice, emailate în interior, înzestrate cu dispozitive pentru controlul şi reglarea temperaturii de fermentare. Fermentarea repetată durează aproximativ o lună, apoi e filtrat prin intermediul temperaturii joase, după care vinul imediat e filtrat şi îmbuteliat. După dopuire şi păstrarea de control sticlele cu şampanie nimeresc la etichetare, apoi sînt expediate.

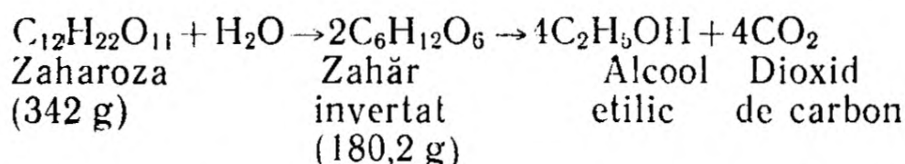
Şampanizarea continuă de obicei în instalaţii, ce constau dintr-un şir de rezervoare (de regulă, 7), unite între ele. Această metodă a fost descoperită acum 10—15 ani şi continuă să se desăvîrşească. Ea garantează o eficacitate economică înaltă şi o bună calitate a şampaniei.

§ 3. Şampanizarea

Şampanizarea se numeşte fermentaţia repetată în spaţiu închis, în urma căreia vinurile se saturează cu dioxid de carbon. Fermentarea repetată decurge mult mai lent decît cea primară şi durează aproape 4 săptămîni (în loc de cîteva zile). Levurile de şampanie trebuie să fie acomodate la condiţiile deosebite ale fermentaţiei, şi anume la prezenţa spirtului (10 vol %) în mediu, la presiunea CO_2 în creştere, la cantitatea redusă de substanţe azotate.

Esenţa procesului de şampanizare e explicată de G. G. Agabalianţ: dioxidul de carbon, ce se formează în urma fermentaţiei repetate a vinului, e fixat în formă de esteri ai alcoolului etilic şi ai acizilor carbonic şi pirocarbonic.

Cantitatea de zahăr, necesară pentru a fi adăugată înainte de fermentarea repetată, se calculează, reieşind din următoarele reacţii:



$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \rightarrow 2C_6H_{12}O_6 \rightarrow 4C_2H_5OH + 4CO_2$$

Zaharoza (342 g) — Zahăr invertat (180,2 g) — Alcool etilic — Dioxid de carbon

Reieşind din aceasta, pentru crearea presiunii necesare (0,6 MPa), într-un litru de vin trebuie dizolvate 24 g de zaharoză. În procesul calculelor se ţine cont de capacitatea de absorbţie a vinului faţă de CO_2, care deviază în dependenţă de cantitatea spirtului şi a extractului din vin.

Capacitatea de absorbţie a vinului faţă de CO_2 (coeficient de absorbţie) e numită capacitatea vinului de a reţine CO_2 în stare dizolvată. Acest coeficient arată ce cantitate de CO_2 (în litri) se poate afla în stare dizolvată într-un litru de vin la presiunea absolută de 0,1 MPa:

$$\beta_t=\beta_o-at+bt^2,$$

unde β_t — coeficientul capacităţii de absorbţie a vinului faţă de CO_2 la t°C;

β_o — capacitatea de absorbţie a vinului faţă de CO la O°C;

a şi b — coeficienţi empirici, care depind de cantitatea spirtului şi zahărului din vin;

t — temperatura, °C;

In urma fermentaţiei sub presiunea acidului carbonic se schimbă corelaţia cantitativă a unor produse ale fermentării. Procesul de formare a alcoolilor superiori se micşorează de două ori, scade biosinteza glicerinei. Totodată creşte cantitatea substanţelor azotate, aldehidelor, acizilor volatili. Aciditatea titrabilă scade şi se schimbă cantitatea unor acizi, în special se reduce cantitatea acizilor tartric şi citric.

§ 4. Principiile biochimice ale tehnologiei vinurilor şampanizate

In procesul preparării şampaniei la sticlă autoliza drojdiilor are loc în perioada de maturare a vinului în sticle în condiţii anaerobe timp de 2—3 ani, iar şampania capătă nuanţe lizate dorite. La prepararea şampaniei prin metoda contemporană în rezervoare procesele acestea nu pot avea loc, deoarece perioada de şampanizare nu durează decît o lună. De aceea vinurile lizate sînt introduse în cupajul pentru fermentaţia repetată (şampanizare).

Trebuie menţionat că autoliza levurilor are loc şi în timpul şampanizării continuie în ultimul rezervor (fermentator). Astfel, activitatea unor enzime creşte de 4—20 de ori şi se măreşte cantitatea agenţilor activi de suprafaţă. Toate acestea influenţează pozitiv asupra calităţii şampaniei.

Procesele biochimice, care însoţesc autoliza levurilor, în şampanie în procesul maturării ei au fost studiate de către A. I. Oparin şi colaboratorii săi. Ei au stabilit că în prima perioadă (aproximativ peste 15 zile după tirajare) levurile se înmulţesc energic. Inmulţirea lor e însoţită de un consum considerabil de zahăr şi substanţe azotate ale vinului; totodată, levurile absorb β — fructofuranozidaza şi proteinazele, ceea ce duce la inactivarea lor.

In perioada a doua, care durează 100 de zile, levurile treptat mor şi spre sfîrşitul perioadei începe autoliza levurilor, ceea ce duce la înnobilarea vinului cu azot aminic, iar activitatea β — fructofuranozidazei şi a proteinazelor creşte.

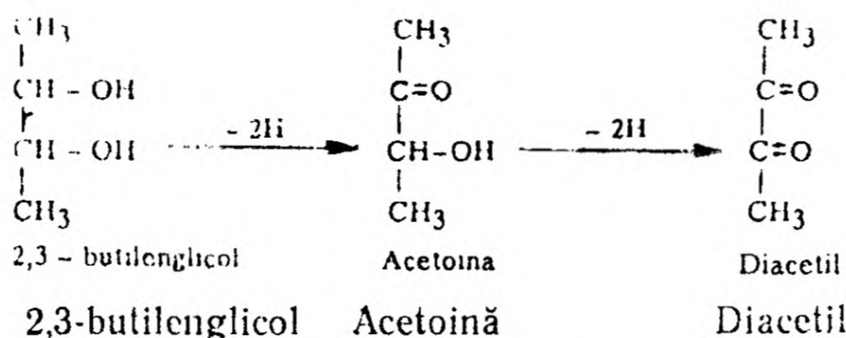
In perioada a treia, ce durează aproximativ 8 luni, decurg inten-

siv procesele biochimice, provocate de enzimele ce trec în vin în urma autolizei.

După primul an de păstrare a șampaniei reacțiile fermentative treptat se atenuează și în anii următori au loc numai reacții chimice de reducere, care înnobilează buchetul și gustul ei.

Astfel, păstrarea vinurilor pe drojdii duce la înnobilarea lor cu enzime, care catalizează procesele ce accelerează maturarea șampaniei.

Problema oxidării vinului are o însemnătate hotărîtoare la producerea șampaniei de calitate înaltă. Nuanțele de oxidare din șampanie se datoresc cantității de diacetil din vin. Diacetilul apare în vin în urma oxidării acetoinei în prezența oxigenului și a ionilor de fier.



2,3-butilenglicol Acetoină Diacetil

Conform rezultatelor experiențelor efectuate, diacetilul în cantitate de 0,2—0,8 mg/l nu înrăutățește calitatea șampaniei. În urma aerării vinului cantitatea diacetilului crește și apare nuanța de oxidare.

Aceasta e caracteristic și pentru șampanizarea vinurilor cu o cantitate mare de zahăr atunci cînd fermentația nu decurge pînă la capăt. Ca urmare, se formează cantități considerabile de diacetil, care și provoacă nuanțele de oxidare. Prezența zahărului în cantități mari în procesul șampanizării duce la formarea melanoidinelor, care deteriorează gustul și buchetul șampaniei.

§ 5. Spumarea și perlarea șampaniei

Perlarea constă în degajarea bulelor mici de dioxid de carbon după destuparea sticlei și umplerea paharelor. Perlarea depinde în mare măsură de rigozitatea pereților paharului. Durata perlării este invers proporțională temperaturii șampaniei, de aceea se recomandă răcirea șampaniei înainte de realizare. Dar, în măsură mai mare, perlarea depinde de metoda de preparare a șampaniei. E dovedit că vinurile saturate în mod artificial cu CO_2, sub presiune, pierd mai repede dioxidul de carbon decît vinurile saturate cu CO_2 pînă la aceeași concentrație în urma fermentației repetate.

Spumarea și perlarea șampaniilor sînt strîns legate de produsele autolizei levurilor. Conform teoriei de șampanizare a lui G. G. Agabalianț, șampania conține trei forme de acid carbonic: gazoasă,

dizolvată, legată. Anume forma legată asigură spumarea şi perlarea şampaniei. Despre forma legată a acidului carbonic există diferite păreri. Cea mai veridică e aceea că legarea are loc în procesul şampanizării prin formarea esterilor acizilor carbonic şi pirocarbonic. E dovedită formarea esterului compus al alcoolului etilic şi acidului pirocarbonic — dietilpirocarbonatului ($C_2H_5—O—\underset{\underset{C}{\|}}{C}—O—\underset{\underset{O}{\|}}{C}—O—C_2H_5$). Această substanţă e puţin stabilă din punct de vedere chimic şi, în urma scăderii presiunii, se distruge. Ea inhibează levurile.

După A. A. Merjanian, acidul carbonic este acea parte a lui, care se află în sistemul închis: vin — CO_2 de rînd cu acidul carbonic dizolvat, dar, spre deosebire de cel din urmă, nu acţionează asupra presiunii sistemei, adică nu ia parte nemijlocit la echilibrul dinamic.

CO_2 (gaz)$\rightleftarrows CO_2$ (dizolvat).

Fără îndoială, că o parte de CO_2 în şampanie se află în formă legată, care nu crează presiunea (tabelul 21). Cantitatea acestei forme depinde de componenţa vinului de bază şi de condiţiile fermentării repetate.

În urma introducerii aminoacizilor, autolizatelor, proteinelor în vin şi a tratării lui cu căldură cantitatea acidului carbonic legat sporeşte. Aceasta se explică prin faptul că proteinele absorb o parte de CO_2, iar acidul carbonic reacţionează cu azotul din grupurile

Tabelul 21

Conţinutul diferitelor forme ale acidului carbonic în vinurile spumante

Vin	Cantitatea CO_2 (în g) într-o sticlă				Partea de CO_2 dizolvat, %
	în total	în formă gazoasă	dizolvat	legat	
Spumos					
fără păstrare	6,81	0,17	6,64	0	0
păstrat 3 luni	6,97	0,15	6,64	0,18	2,6
păstrat 12 luni	6,79	0,17	6,40	0,22	3,3
De rezervor					
prin metoda întreruptă	7,14	0,17	5,98	1,00	14,0
prin metoda continuă	7,17	0,17	5,80	1,20	16,7
Şampanie maturată la sticle	6,92	1,16	5,57	1,18	17,1

funcționale ale proteinelor și aminoacizilor. Astfel se întețește spumarea și perlarea șampaniei. Tratarea cu frig atenuează aceste proprietăți ale șampaniei.

§ 6. Vinurile pentru heresare

Pentru heresare se folosesc vinurile tinere albe seci. Pentru prepararea lor sînt folosite diferite soiuri de viță-de-vie. Însă din unele soiuri poate fi preparat heres tipic, de calitate corespunzătoare, iar din altele — nu. Diversă e și viteza lor de heresare. Valabilitatea soiurilor pentru prepararea heresului depinde de compoziția chimică a mustului. Are importanță și regiunea de recoltare. Unele soiuri dau rezultate dorite, indiferent de regiune de recoltare (Aligote, Rkațiteli, Semilion), altele — numai în anumite regiuni (Narma — în Daghestan, Terbas — în Turkmenia, Fetească — în Moldova, Puhleakovski — pe Don).

Cantitatea compușilor fenolici (în special a substanțelor tanante) nu trebuie să depășească 0,3 g/l pentru heresul de masă și 0,4 g/l pentru cel de desert, deoarece o cantitate a lor mai mare atribuie vinului un gust neplăcut și frînează dezvoltarea levurilor de heres.

Cantitatea spirtului în vinuri trebuie să atingă 16 vol %. La o tărie mai ridicată levurile de heres nu se pot dezvolta, iar la o tărie mai joasă apare primejdia dezvoltării microflorei străine.

Vinul trebuie să conțină cantitatea necesară de substanțe azotate pentru alimentarea levurilor de heres.

Cantitatea acidului sulfuric liber nu trebuie să depășească 5—7 mg/l. O cantitate mai sporită poate frîna dezvoltarea levurilor și procesul de heresare.

Etapele principale ale producerii heresului sînt: prepararea vinului de bază, heresarea vinului, cupajul, tratarea cu căldură, îmbutelierea, maturarea la sticle.

§ 7. Biochimia vinurilor de tipul heres

Datorită activității vitale a levurilor de heres la suprafața vinului se formează o peliculă și, în condiții aerobe, decurg procese biochimice complicate, care duc la apariția nuanțelor specifice heresului.

Procesele principale, care decurg sub peliculă în timpul maturării vinului, sînt cele de oxidoreducere și autolitice. Datorită activității levurilor în vin se acumulează aldehide și acetali, scade cantitatea etanolului, substanțelor azotate, compușilor fenolici, vitaminelor. În afară de spirt, levurile de heres întrebuințează și acizi volatili, glicerină, alcooli superiori, substanțe azotate.

Maturarea vinului sub peliculă e însoțită de formarea unor acizi noi (oxalic, glicolic, fumaric) și de reîntoarcerea aminoacizilor în vin în urma autolizei levurilor.

Heresarea este un proces biochimic, care decurge în vin cu participarea unor rase de levuri speciale și a oxigenului. Ea e însoțită

de formarea unui şir de substanţe, caracteristice vinurilor de tipul heres — în primul rînd a aldehidei acetice şi a acetalilor şi esterilor. În unele regiuni uneori nuanţele de heres apar simultan. Cu toate acestea, fără heresarea specială nu poate fi pregătit heresul tipic.

Cea mai veche, verificată şi sigură metodă de heresare este pelicularea, sau formarea peliculei compacte la suprafaţa vinului în urma dezvoltării levurilor de heres (peste 3—4 săptămîni). În ultimii 10—15 ani e studiată metoda de adîncime, conform căreia levurile de heres se dezvoltă prin tot volumul vinului. Această metodă dă rezultatele dorite, dar e nevoie de aerare artificială.

Efectul heresării poate fi atins şi prin metoda autolizei oxidabile a levurilor (metoda fără peliculă).

Însuşi procesul heresării şi rezultatele finale ale ei depind de mulţi factori: compoziţia chimică a vinului, specia şi rasa levurilor, vîrsta peliculei levurilor, durata procesului de heresare, temperatura şi regimul de oxigen.

Temperatura optimă de heresare e de 16°C. Temperaturile mai înalte provoacă maderizarea vinurilor, mai joase — frînează dezvoltarea levurilor de heres.

Durata peliculării de obicei e de 3—6 luni. Pelicularea mai îndelungată şi folosirea peliculei îmbătrînite pot duce la un rezultat diametral opus — slăbirea efectului heresării, deoarece celulele levurilor parţial pier şi procesele biochimice decurg cu totul altfel.

Regimul de oxigen este unul din factorii cei mai principali ai heresării, cu atît mai mult, că el uşor poate fi reglat.

În procesul introducerii artificiale a oxigenului din aer în vin poate fi stabilită uşor doza lui optimă, egală aproximativ cu 1 mg/min.

Există păreri că doaga de stejar joacă rolul de catalizator în procesele biochimice ale heresării şi că unele microelemente acţionează asupra vitezei de heresare.

În procesul heresării componenţii de bază ai vinului sînt supuşi unui şir de procese biochimice, în urma cărora se schimbă componenţa chimică a lui şi proprietăţile organoleptice. Transformările aceastea depind în mare măsură de metoda de hersare. Cantitatea etanolului din vin scade cu 0,4 vol %, iar în urma unei heresări mai îndelungate chiar şi cu 1 vol %. Cea mai mare parte a etanolului (80%) este oxidată de levurile de heres pînă la CO_2 şi H_2O şi numai o parte se oxidează în aldehidă acetică.

În acest proces un rol mare îl joacă enzima alcooldehidrogenaza. Ea e foarte activă în luna a doua, cînd o parte din peliculă se lasă la fund şi începe autoliza levurilor.

Acumularea aldehidei acetice şi a acetalului ei cu etanolul sînt cele mai caracteristice reacţii din perioada heresării. Cantitatea aldehidei acetice se schimbă: în vinul de bază e de 20—30 mg/l, pe cînd în perioada heresării creşte pînă la 400—700 şi chiar 1000 mg/l, a acetalilor — de la 10—20 pînă la 200—300 mg/l.

Calitatea heresului se caracterizează prin raportul dintre aldehide şi acetale; în heresul gata el se apropie de o unitate, însă

Tabelul 22

Schimbarea cantității acizilor în urma heresării vinului prin diferite metode, g/l

Acidul	Metoda heresării		
	peliculară	de adîncime	fără peliculă
Tartric	3,2/3,2	3,2/2,1	3,8/3,8
Citric	0,26/0,3	0,26/0,22	0,1/0,1
Lactic	1,0/1,3	1,0/0,8	1,7/1,7
Acetic	0,4/0,2	0,4/0,2	0,31/0,34
Malic	2,3/2,1	2,3/1,5	1,3/1,3
Succinic	0,9/1,0	0,9/0,6	1,0/1,2

Notă. La numărător — cantitatea inițială a acizilor; la numitor — după heresare.

imediat după heresare poate fi mai mare (3:1). Aldehida acetică, la fel ca și etanolul, poate fi utilizată de levuri în procesul respirației, ceea ce și explică micșorarea cantității ei în timpul heresării.

Cu cît temperatura de heresare e mai înaltă, cu atît aerarea e mai puternică, concentrația spirtului în medie e mai joasă și pierderile în spirt sînt mai mari.

Pentru heresare e caracteristică scăderea cantității acizilor volatili, în special a acidului acetic, utilizat de levurile de heres. Cantitatea acidului acetic sub peliculă poate să se micșoreze pînă la 90%. Numai în unele cazuri acidul acetic se poate forma din aldehide acetice sau din acidul lactic.

Cantitatea acizilor nevolatili, de regulă, se micșorează cu 10—30% (tabelul 22).

Se mai schimbă componența și cantitatea acizilor volatili. Se formează acizi noi: oxalic, glicolic, fumaric, glutaric, are loc transformarea unor aminoacizi sau în acizi organici. Sporește cantitatea diacetilului. Se reduce cantitatea compușilor heterociclici — furfurol, metilfurfurol, hidroximetilfurfurol.

În urma dezvoltării peliculei de heresare pe suprafața vinului are loc scăderea considerabilă a azotului general și asimilarea unui șir de aminoacizi ai vinului din partea levurilor. E dovedită și asimilarea azotului din atmosferă. Cu toate acestea, utilizarea azotului de către levuri în procesul pelculării e mai mică decît procesul fermentației alcoolice. Dacă în timpul fermentației sînt utilizate 30% azot general și aproape 40% azot aminic, atunci în procesul peliculării — respectiv 4 și 17%.

Gradul de utilizare a aminoacizilor diferă. Bunăoară, din cei 11 aminoacizi utilizați de levuri, cantitatea tirozinei se micșorează cu 77%, a leicinei — cu 70, a alaninei — cu 36%. Nu suferă schumbări cisteina, lizina, prolina, acidul aminobutilic. Apare un

aminoacid nou — triptofanul. O parte a aminoacizilor se reîntoarce în vin odată cu începerea autolizei. În urma dezaminării aminoacizilor se formează acizi organici. Din alanină se formează acid lactic, din acidul glutaminic—acid succinic. Introducerea suplimentară a hranei azotate pentru levuri în formă de soluţie de amoniac accelerează dezvoltarea peliculei de heresare, sporeşte activitatea enzimelor, intensifică acumularea acizilor organici în vin. Unele produse ale dezaminării aminoacizilor pot avea o influenţă hotărîtoare asupra calităţilor organoleptice ale vinului în procesul heresării.

În procesul heresării sînt necesare vitaminele şi substanţele tanante. Levurile de heres necesită neapărat biotină. Ele înseşi sintetizează vitamina B_1. În decurs de 6 luni, cît vinul se află sub peliculă, cantitatea riboflavinei se micşorează cu 48—50%, a tiaminei — cu 40—100%, a acidului nicotinic — cu 13—30%. Adăugarea unor vitamine în vin pînă la heresare nu dă efectul pozitiv dorit.

Heresarea provoacă micşorarea cantităţii substanţelor tanante în vin, mai ales tara nelemnoasă. Paralel sporeşte cantitatea polifenolilor şi fluroglucinei. Substanţele tanante în cantităţi considerabile (ce depăşesc 0,5 g/l) acţionează deprimant asupra levurilor de heres.

Estreii volatili ai heresului sînt reprezentaţi de primii doisprezece alcooli monoatomari şi de acelaşi număr de acizi monobazici ai seriei acizilor graşi. Aceşti esteri au diverse mirosuri de fructe şi, împreună cu aldehidele, acetalii şi uleiurile eterice, determină buchetul heresului.

§ 8. Tratarea termică a vinurilor heresate

Tratarea termică a vinurilor după heresare înnobilează calitatea lor, atribuindu-le gust şi aromă desăvîrşite. Tratarea poate fi efectuată în butoaie sau în cisterne. Cisternele sînt mai economicoase, deoarece pierderile în vin scad de 10 ori. Parametrii probabili ai tratării termice sînt: temperatura — 40°C, durata — 45 de zile. La o temperatură mai joasă (30°C) durata tratării creşte pînă la 120 de zile. Temperatura mai înaltă de 40°C şi durata mai îndelungată duc la apariţia nuanţelor de maderă, care nu sînt caracteristice heresului (mai ales celui sec).

Tratarea termică influenţează asupra componenţei chimice a heresului — reduce cantitatea aldehidelor şi sporeşte cu mult cantitatea acetalilor (de 2—3 ori, cu 50—150 mg/l).

Sporeşte de 2—3 ori şi cantitatea esterilor volatili, a acizilor fumaric şi oxilic, ulterior schimbîndu-se componenţa acizilor organici şi a aminoacizilor.

BIBLIOGRAFIE

Авраменко И. Ф. Микробиология. М., 1979.

Бурьян Н. И. Тюрина Л. В. Микробиология виноделия. М., 1979.

Cotea V. D., Sauciuc J. H. Tratat de oeonologie, volumul II. Editura «Ceres», Bucureşti, 1988.

Cotea V., Pomohaci N., Cheorghiță M. Oeonologie, Editura didactică şi pedagogică. Bucureşti, 1982.

Кишковский З. Н. Биохимические основы виноделия. М., 1973.

Кондо Г. Ф., Нудель Л. С., Короткевич А. В. Руководство по микробиологий виноделия. Кишинев, 1966.

Popa A. I. Teodorescu Ş. C. Microbiologia vinului. Editura «Ceres». Bucureşti, 1990.

Родопуло А. К. Биохимия виноделия. М., 1971.

Родопуло А. К. Биохимия шампанского производства. М., 1975.

Валуйко Г. Г. Биохимия и технология красных вин. М., 1973.

Вербина Н. М., Каптерева И. В. Микробиология пищевых производств: М., 1988.

CUPRINS

PARTEA III. BIOCHIMIA VINULUI

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Лия Шмилевна Нудель
Александр Васильевич Короткевич

МИКРОБИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ВИНА

(на румынском языке)

Redactor artistic V. Buev. Tehnoredactor G. Andreeva. Corector Z. Șvet
FI Nr. 4766
Dat la cules 5.08.91. Bun de tipar 19.11.91. Formatul 60×90[1]/16.
Hîrtie de tipar Nr. 2. Garnitură literară. Tipar înalt. Coli de tipar 13,25.
Impr. crom.-conv. 13,62. Coli editoriale 15,85. Tirajul 1000. Comanda Nr. 508.
Editura «Universitas»
277004, Chișinău, bul. Ștefan cel Mare, 180.
Tipografia Centrală, 277068, Chișinău; str. Florilor, 1.
Departamentul de Stat pentru edituri, poligrafie și comerțul cu cărți
al Republicii Moldova.